S. Trilsch

Berlijn 1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548902_0044

# KLINISCHE UNTERSUCHUNG ÜBER DEN EINFLUß VON OVULATIONSHEMMERN AUF DIE NEBENNIEREN-RINDENFUNKTION

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr.med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät des Wissenschaftlichen Rates der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dipl.med.Siegfried F r i t s c h
geboren am 28.1.1946 in Berlin

Dekan : Prof.Dr.sc.med.G.Ließ

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gutachter:

1.

2.

3.

Potsdam, den 31.10.1975

INHALTSVERZEICHNIS


| | Seite |
|---|---|
| Einleitung | 1 - 15 |
| Problemstellung | 16 - 17 |
| Material und Methode | 18 - 23 |
| Ergebnisse | 24 - 43 |
| Diskussion | 44 - 48 |
| Zusammenfassung | 49 - 51 |
| Literaturverzeichnis | I - VIII |

A. Einleitung

I. Entwicklung der Ovulationshemmer

Die ersten Versuche, die Ovulation durch Hormone zu unterdrücken, gehen bis auf Haberland zurück (29). Er bewies schon 1921, daß durch die Transplantation von Ovarien schwangerer Versuchstiere auf geschlechtsreife Spezies es bei diesen zu einer zeitlich befristeten Sterilität kommt. Dieser Effekt wurde dem hohen Gehalt an Corpus luteum der transplantierten Ovarien zugeschrieben. In den 30ger und 40ger Jahren dieses Jahrhunderts führte eine Vielzahl klinischer Beobachtungen zu der Auffassung, daß frühe und langdauernde parenterale Progesterongaben eine Hemmung der Gonadotropinausschüttung und somit eine Unterdrückung der Ovulation bewirken (5, 46). Die damals durchgeführten Versuche einer oralen Ovulationshemmung durch Steroide waren für die Durchführung einer antikonzeptionellen Behandlung unzureichend. Der entscheidende Nachteil war die mangelnde orale Wirksamkeit und die häufig auftretenden Durchbruchsblutungen (31). Die Möglichkeit für die Durchführung der oralen hormonellen Ovulationshemmung ergab sich erst im Jahre 1954 durch die Entdeckung von Derivaten des 19-nor-Testosterons. Diese zeigten bei ihrer oralen Anwendung starke gestagene Eigenschaften (35). Diese Tatsache wurde durch PINCUS (55), ROCK & Mitarbeiter (62) erkannt. Sie schufen damit die Voraussetzung für die Entwicklung der heute millionenfach angewendeten hormonellen Kontrazeptionsbehandlung.

Die damals von ihnen verwendeten Gestagenmengen waren zu hoch dosiert (53) und wahrscheinlich für verschiedene beobachtete Nebenwirkungen, wie anabole Gewichtszunahme, Libidoverlust, Akne, Depressionen u. a. verantwortlich

(18, 38, 79). Für die optimale Ovulationshemmung hat sich die Kombination bewährt, d. h. die Verbindung von Gestagenen und Östrogenen. Dabei ist es wichtig, ein optimales Mischungsverhältnis beider Anteile zu erreichen und außerdem die Steroide so niedrig wie möglich zu dosieren, um unerwünschte Nebenwirkungen zu vermeiden.

Das Prinzip aller heute, außer bei der Anwendung der Sequentialtherapie (37), verwendeten Ovulationshemmer, besteht in einer Kombination von oral wirksamen Östrogenen und Gestagenen.

Die Gestagene stammen von zwei Stoffklassen ab, vom Östran- bzw. 19-nor-Testosteron (Abb. 1 und 2) oder vom 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronacetat (Abb. 3).

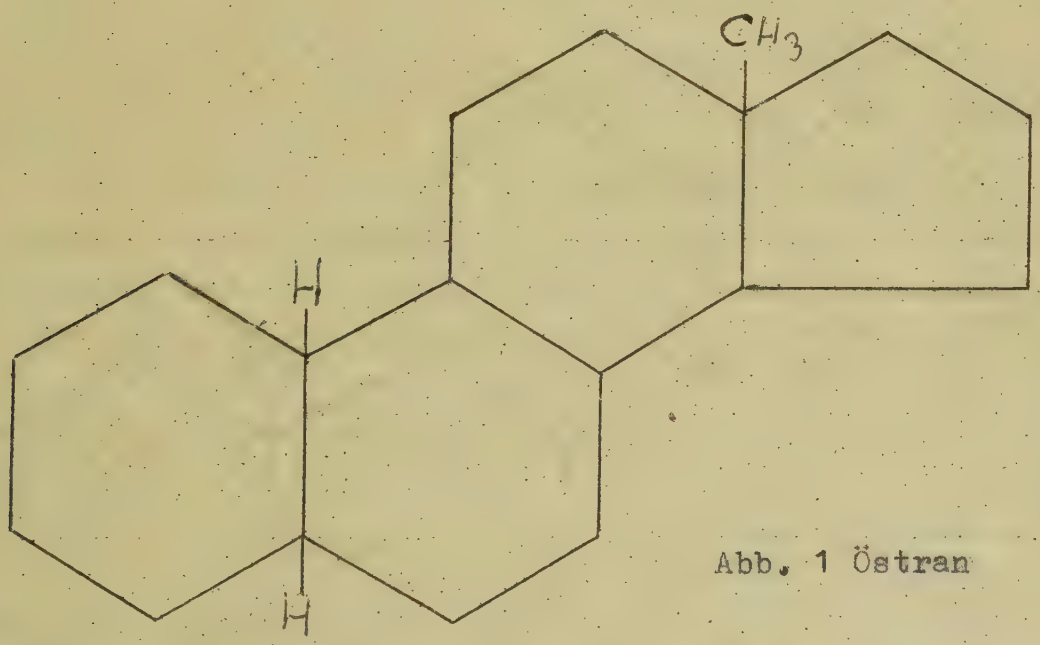
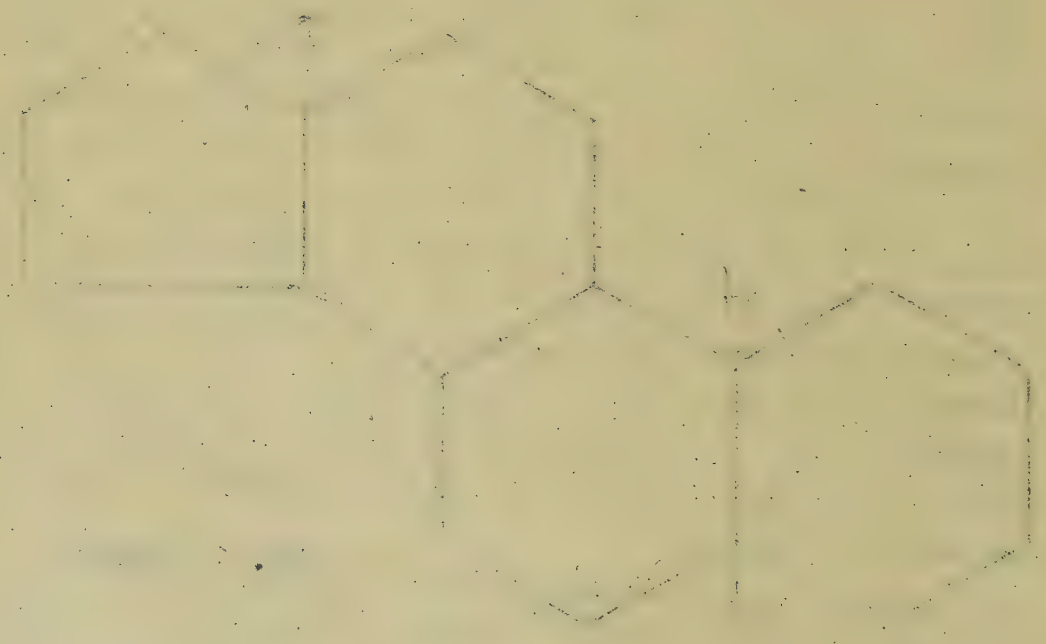



Abb. 1 Östran



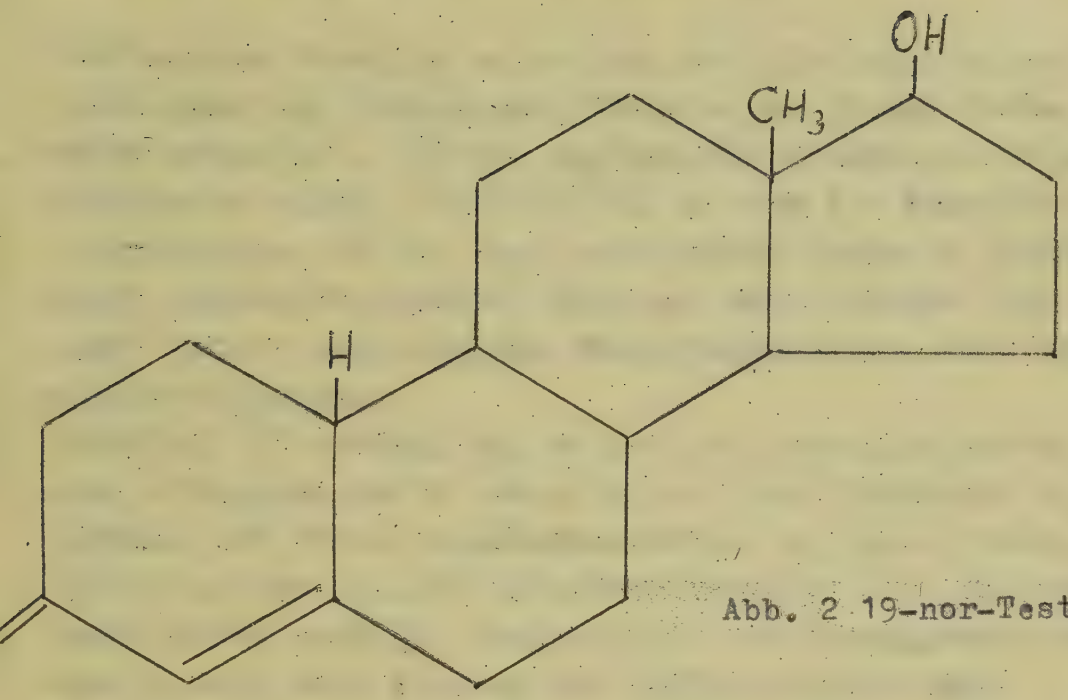



Abb. 2 19-nor-Testosteron

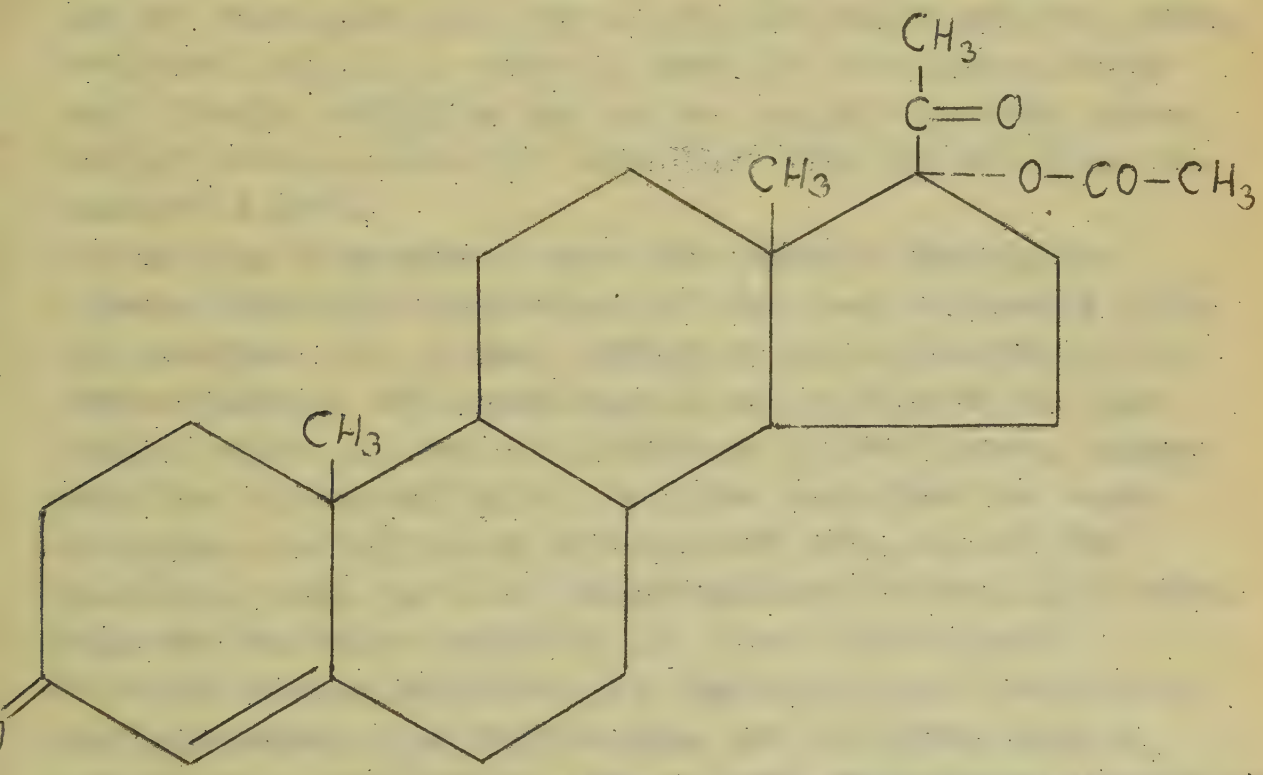
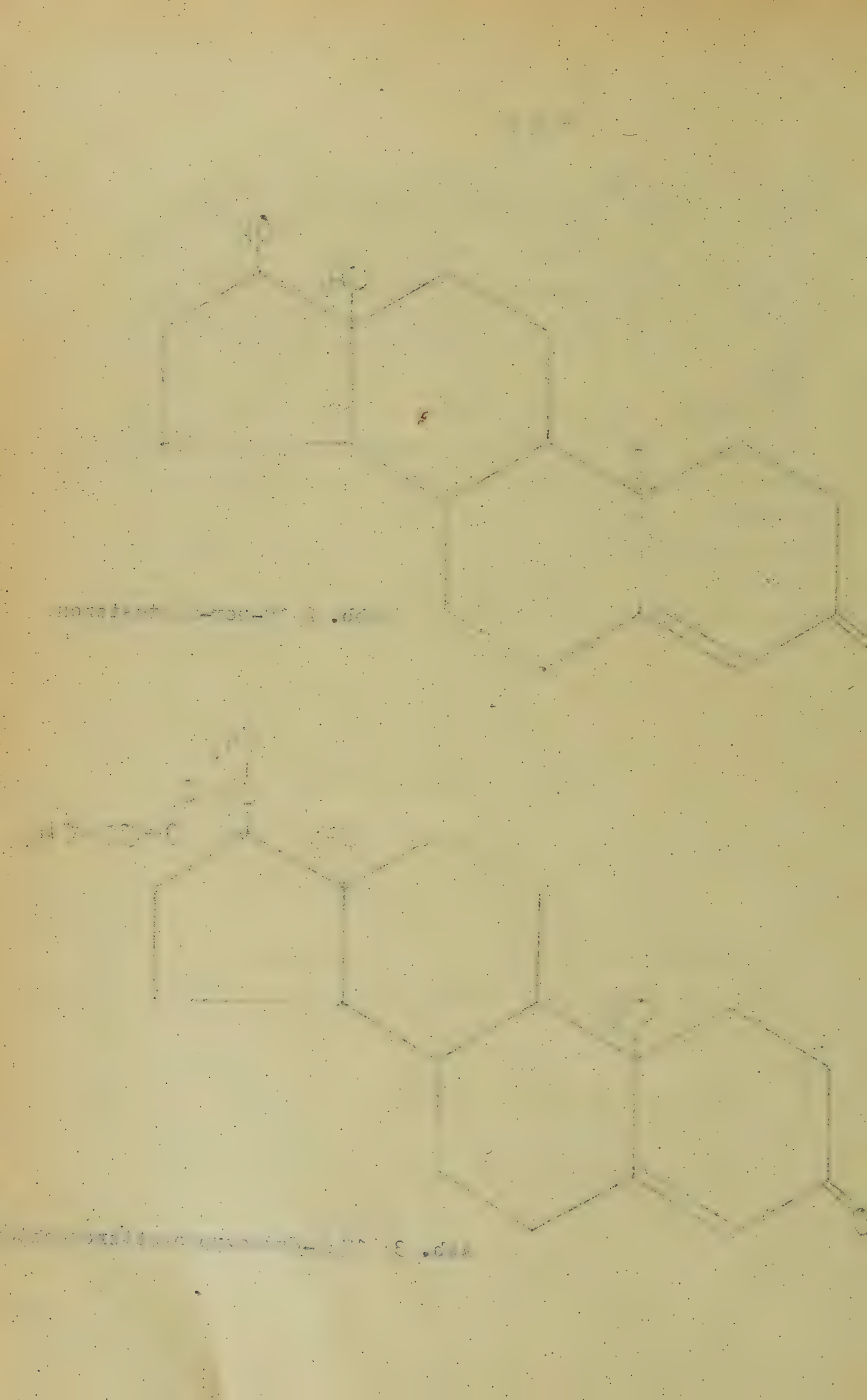



Abb. 3 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronacetat



## II. Wirkungsweise der Ovulationshemmer

Die meisten Forscher nehmen an, daß die Kombination von Gestagenen und Östrogenen, ähnlich wie in der Frühschwangerschaft, auf das Hypophysenvorderlappen-Zwischenhirnsystem wirkt. STAEMMLER (74) konnte den Hemmeffekt der Progestagene auf das Ovar nachweisen, indem er Frauen, die unter Gestagenbehandlung standen, Gonadotropine gab, und somit unter Aufhebung der Progestagenwirkung eine Ovulation auslösen konnte.
BUCHHOLZ (9) bewies, daß es bei der Anwendung von Gestagenen und Östrogenen sowohl einzeln als auch kombiniert zu einer Abnahme der Gonadotropinausscheidung im Sinne eines Hemmeffektes über das HVL-Zwischenhirnsystem kam. Gleichzeitig verminderte sich die Pregnandiol- und Östrogenausscheidung, und es trat eine Hemmung der Follikelreifung ein.
Auf Grund dieser Beobachtungen kann daher angenommen werden, daß die Ovarialfunktion wie in der Graviditär gebremst wird, denn auch bei dieser entsteht durch die vom Corpus luteum graviditatis gebildeten und später von der Placenta produzierten Sexualhormone ein Hemmeffekt über das HVL-Zwischenhirnsystem (53).
Von einigen Untersuchern wird eine direkte Wirkung der Gestagen-Östrogen-Kombination auf das Ovar angenommen (30). Sie vermuten, daß es sich hierbei um ein Eingreifen in den Fermenthaushalt des Ovars handelt und es dadurch zu einer Beeinflussung der Steroidbiosynthese im Ovar kommt. Dadurch soll die Reaktionsfähigkeit des Eies gegenüber den regulierenden Gonadotropinen herabgesetzt sein, so daß die Ovulation trotz normaler Gonadotropinausschüttung ausbleibt.
Folgende Ergebnisse sprechen für diese Vorstellung:
Es wurden Frauen behandelt, die langanhaltende Amenorrhoen der hypogonadotropen Form hatten. Sie erhielten exogene Gonadotropine verabreicht, und dadurch entwickelte sich bei diesen Frauen wieder ein biphasischer Zyklus. Bei einigen

dieser Patientinnen wurde zusammen mit den exogenen Gonadotropinen synthetische Gestagene gegeben. Darauf reagierten die Ovarien dieser Frauen nicht mehr auf die kombiniert gegebenen Gonadotropine. Die Hormonausscheidung von Östrogenen und Pregnandiol war wieder erniedrigt (19, 32, 42). GOLDZIEHER (27) und Mitarbeiter fanden bei Frauen, die Ovulationshemmer einnahmen, daß bei 6,8 % von ihnen keine Unterdrückung der Ovulation stattgefunden hatte. Trotzdem trat bei keiner dieser Untersuchten eine Schwangerschaft ein. Durch diese Beobachtungen wird deutlich, daß zusätzlich zu den beiden Wirkungsmechanismen der zentralbedingten und direkt am Ovar angreifenden Ovulationshemmung noch andere Mechanismen wirksam sind, die die Konzeption verhindern. Man spricht von einem Endometriumfaktor und einem Zervixfaktor. Unter dem Endometriumfaktor sind die Veränderungen der Gebärmutterschleimhaut bei einer intermittierenden Behandlung mit Gestagenen und Östrogenen zu verstehen, die für die Nidatation ungünstige Verhältnisse schaffen. Unter der Kombinationsbehandlung kommt es sehr bald zu einer vorzeitigen Transformation (meist in der ersten Zyklushälfte) im Sinne einer sekretorischen Drüsenleistung. In den letzten 10 Behandlungstagen tendieren die Endometriumdrüsen zur Rückbildung, ohne ihre volle sekretorische Umwandlung zu erfahren, und das Stroma entwickelt sich zum Ödem (45, 63, 83). Diese Veränderungen, die die Nidatation erschweren und allgemein in ihrer Gesamtheit als Endometriumfaktor bezeichnet werden, treten bei der Sequential-Therapie bzw. den Zweiphasen-Ovulationshemmern nicht auf. Ihr Prinzip ist folgendes: In der ersten Phase vom 5. Tag bis zum 15. bzw. 16. Tag werden nur Östrogentabletten gegeben. Die Ovulationshemmung wird allein durch das zugeführte Östrogen erzielt. In der 2. Phase werden Östrogen-Gestagenkombinationen vom 16. bzw. 17. Tag an bis zum 21. Tag gegeben. Die Gestagene bewirken dann lediglich eine sekretorische Umwandlung des Endometriums, dadurch wird eine regelartige Abbruchblutung ermöglicht. Es

kommt somit zu keiner Verkürzung und Abschwächung der "Menstruationsblutung", wie sie so und so bei den Einphasenovulationshemmern beobachtet wird.
Die Biopsien der Schleimhautveränderungen bei der Sequentialtherapie mit Mestranol und Chlormadinonacetat, die auch in der DDR im Sequenzpräparat enthalten sind, ergeben folgende Befunde: In der ersten Phase zeigen sich Bilder der frühen oder mittleren Proliferationsphase. In den beiden ersten Tagen der Östrogen-Gestagenkombinationsbehandlung entwickeln sich am Endometrium späte Proliferationszeichen, aber noch keine gestagenen Veränderungen. Am letzten Tag der Therapie zeigen sich bei etwa 97 % der Untersuchungen am Endometrium gestagene Veränderungen. Zwei Drittel dieser Fälle ergeben Schleimhautbilder des 16. oder 17. Tages eines ovulatorischen Zyklus, und etwa ein Drittel der Endometriumbefunde zeigen das Bild eines unbehandelten Zyklus (60). Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es bei der Zweiphasentherapie nicht zu einer Atrophie des Endometriums bei der Langzeitbehandlung kommt. Der Schleimhautaufbau ist dem des ovulatorischen Zyklus angenähert. Verbunden damit ist jedoch der Wegfall des Endometriumfaktors ebenso wie der des Zervixfaktors.

Am Zervix-Schleimhautpfropf entstehen ähnlich wie in der Corpus luteum Phase chemisch-physikalische Veränderungen, die in ihrer Art und Menge von den Sexualhormonen abhängig sind (22, 63). Mit Hilfe des Sims-Kuhnertestes wird das Penetrationsvermögen der Spermien vom 7. bis 16. Zyklustag unter Ovulationshemmern untersucht. Dabei werden Veränderungen des Zervikalschleimes festgestellt, die sich in erhöhter Viskosität, einer Verminderung der Spinnbarkeit und dem Fehlen bzw. der atypischen Farnkrautbildung zeigen und dadurch erheblich das Penetrationsvermögen der Spermien behindern (13, 52). Demzufolge konnten unter Ovulationshemmern in der Zyklusmitte, also an den theoretisch

fertilen Tagen, auch keine beweglichen Spermien nachgewiesen werden (39, 47). Aus den Endometrium- und Zervixbefunden lassen sich daher noch zwei weitere Mechanismen der Konzeptionsverhütung ableiten.
Es besteht somit eine dreifache Absicherung:
Absoluter Schutz durch Unterdrückung der Ovulation, die zentral oder peripher, also sowohl über die Hypophyse als auch über das Ovar vor sich geht (42, 76), und weiterer Schutz durch fehlende Transformation in der zweiten Phase sowie durch Zervixschleimpfropfveränderungen.

## III. Östrogene
### 1. Allgemeines

Die Östrogene sind durch einen aromatischen A-Ring, das Fehlen der Methylgruppe am C-Atom 10 und durch eine Hydroxylgruppe am C-Atom 3 charakterisiert. Abb. 4

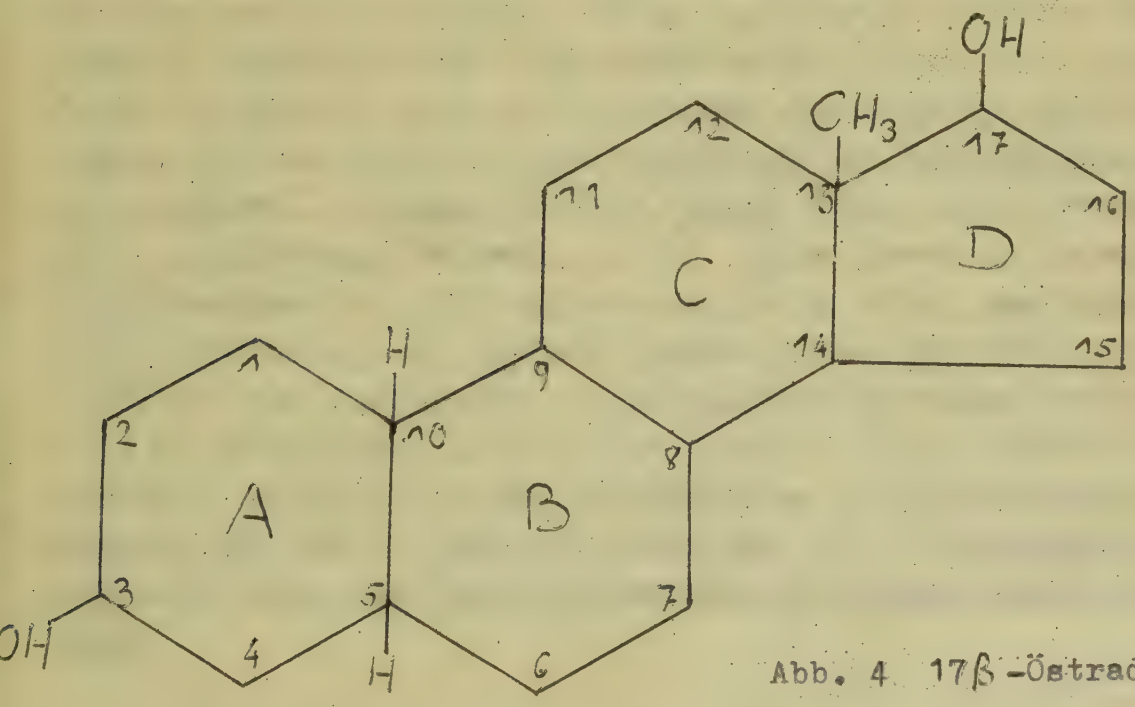
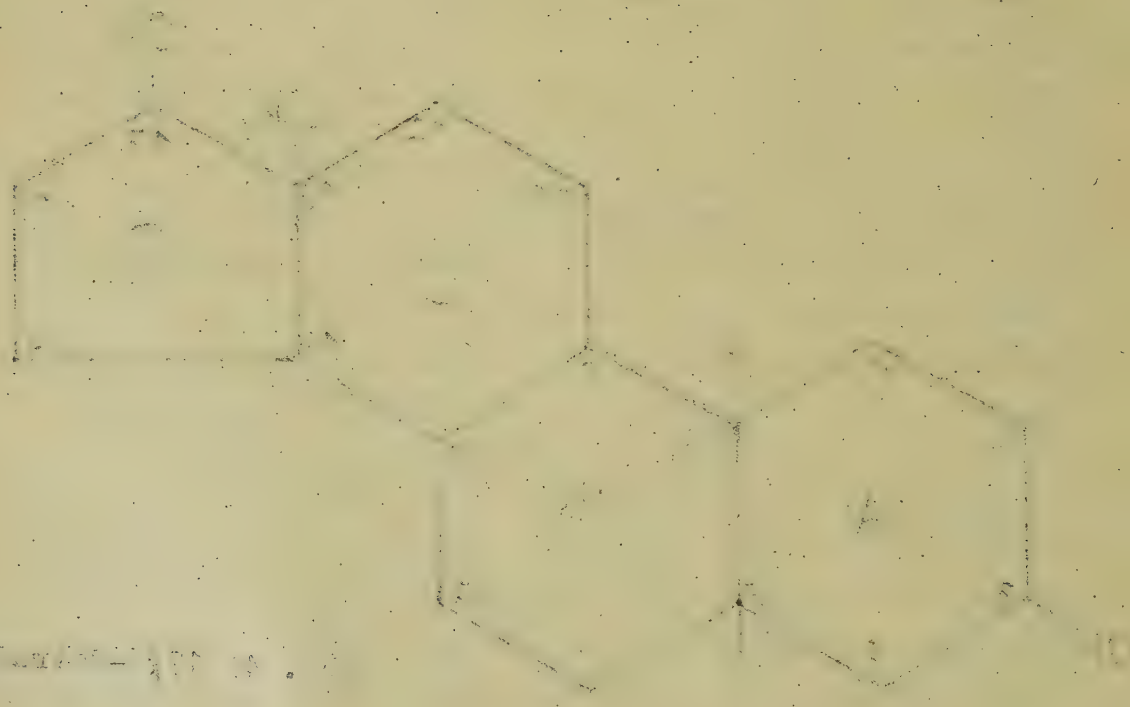



Abb. 4 17β-Östradiol



Sie werden im Graafschen Follikel des Ovars, im Gelbkörper sowie während der Schwangerschaft in der Placenta gebildet. Geringe Mengen werden auch in der Nebenniere produziert (31).
Das aktivste der drei im Organismus vorkommenden Östrogene ist das Östradiol (Abb. 4). Weniger wirksam sind Östron und Östriol. Letzteres kommt hauptsächlich im Harn als Ausscheidungsprodukt vor. Die Inaktivierung der Östrogene geschieht vorwiegend in der Leber. Die Ausscheidung erfolgt zum größten Teil im Harn als Glucuronide oder Sulfate. Ein geringer Teil der Östrogene wird über die Galle ausgeschieden und dann in den Fäzes eleminiert.

2. Östrogenwirkungen
A. Genitale Wirkungen

Unter dem Einfluß der Östrogene kommt es zu folgenden Veränderungen am weiblichen Genitale: Die Dicke, Durchblutung und der Zellreichtum der Uterusmukosa nimmt stark zu. Die runden und kurzen Drüsen beginnen zu sprossen und sich zu langen geraden Drüsenschläuchen zu strecken. Ebenfalls vergrößert sich die Muskulatur des Uterus, indem die Fasern stärker werden, sich teilen und ihr Flüssigkeitsgehalt zunimmt. Auf den Eileiter wirken Östrogene wachstums- und durchblutungsfördernd. In der Vagina kommt es zu einer Proliferation des Plattenepithels und zu einer gesteigerten Glykogenbildung, die die Voraussetzung der Säurebildung und damit für den Selbstschutz schafft. Die Östrogene bewirken eine Kristallisation des Zervixschleims. Diese Veränderung wird als Farnkrautphänomen bezeichnet. Als sexualspezifische Wirkung ist der Einfluß der Östrogene bei der Entwicklung und Ausbildung des Drüsenkörpers in den Mammae anzusehen (30).

B. Extragenitale Östrogenwirkungen

Die extragenitalen Beeinflussungen und Wirkungen durch die Östrogene sind vielgestaltig und zum Teil noch nicht restlos geklärt. Folgende Einflüsse sind bisher untersucht und erklärt: Durch die Östrogene wird die antidiuretische Wirkung der Hypophysenhormone verstärkt. Bei Überdosierung dieser Steroide kann es daher zu Ödemen kommen. Allgemein haben Östrogene eine sympatikotrope Wirkung, d.h. das vegetative Nervensystem wird durch sie beeinflußt, indem sowohl der Darmtonus gesteigert wird als auch die Glykogenmobilisation in der Leber forciert wird. Ferner wurde durch Östrogeneinfluß eine direkte Wirkung auf die Muskulatur von Blutgefäßen bei Kaninchen nachgewiesen. Hierbei kommt es zu strukturellen Veränderungen in Form von Muskelzellenauflockerung und Tonusabnahme der Gefäßwände.

Von vielen Autoren ist der Östrogeneinfluß auf die Nebennieren (besonders auf die Glukokorticoidveränderungen im Plasma) untersucht worden. So konnten PETTERSON (54) sowie MARKS (43) bei der Verabfolgung von synthetischen Östrogenen eine Erhöhung der Plasmaglukokorticoide feststellen. Dieses signifikante Ansteigen der 11-OHCS durch Östrogenapplikation wurde von vielen anderen Autoren ebenfalls gefunden (6, 16, 17, 20, 49, 70).
Parallel dazu steigt das spezifisch Cortisol bindende $\alpha_1$-Globulin, das Transcortin an (21, 67). Analoge Veränderungen finden sich in der Schwangerschaft, vor allem im letzten Trimester. Hier wird ebenfalls durch den stark erhöhten Östrogenspiegel ein Anstieg des ACTH bewirkt. Dieses Phänomen wurde zuerst von GAMZELL (25) beschrieben und später von anderen Autoren in ihren Untersuchungen bestätigt (23, 44, 66).
In jüngsten Beobachtungen und Untersuchungen wurde ge-

funden, daß es außer dem Ansteigen der eiweißgebundenen 1 1-OHCS im Plasma auch zu einer Erhöhung der freien nicht eiweißgebundenen und somit biologisch aktiven Glukokorticoide (72) in der Gravidität kommt (20, 67, 76). Diese Erscheinung tritt auch durch den Östrogeneinfluß bei Nichtschwangeren auf.
So fanden DOE (22), SANDBERG (67), PLAGER und Mitarbeiter (56) während der Östrogenbehandlung einen signifikant höheren nicht proteingebundenen Plasma-Cortisolspiegel im Vergleich zu unbehandelten Patientinnen. Bei ihnen stieg der Anteil der ungebundenen und somit biologisch aktiven Glukokorticoide um das Zwei- bis Dreifache des Ausgangswertes an. Andere Autoren bestätigten durch ihre Untersuchungen diese Befunde, indem sie mehr oder weniger gleiche Ergebnisse erzielten (10, 11, 57).
Zusammenfassend kann daher gesagt werden, daß die Östrogene ein Ansteigen der gebundenen und somit biologisch inaktiven Glukokorticoide hervorrufen und parallel dazu eine Erhöhung des spezifisch Cortisol bindenden Transcortins induzieren. Außerdem bewirken sie auch ein Ansteigen des biologisch aktiven, also ungebundenen Cortisols.
Für diese erhöhte Glukokorticoidaktivität werden folgende Mechanismen diskutiert:

1. Eine erhöhte Cortisolsekretionsrate (14, 15) kombiniert mit einer verstärkten oder zumindest gleichbleibender Harnausscheidung von Cortisolmetaboliten (2, 15, 69, 75).
2. Eine verminderte Verstoffwechslung, also eine längere Halbwertzeit von Cortisol bei nicht oder sogar erniedrigter Sekretionsrate (67).

Die meisten Autoren tendieren zu der Auffassung, daß es durch die Östrogenzufuhr auch zu einer verstärkten Sekretion von Cortisol kommt.

IV. Gestagene

1. Allgemeines

Progesteron (Abb. 5) gehört zur Gruppe der $C_{21}$-Steroide.

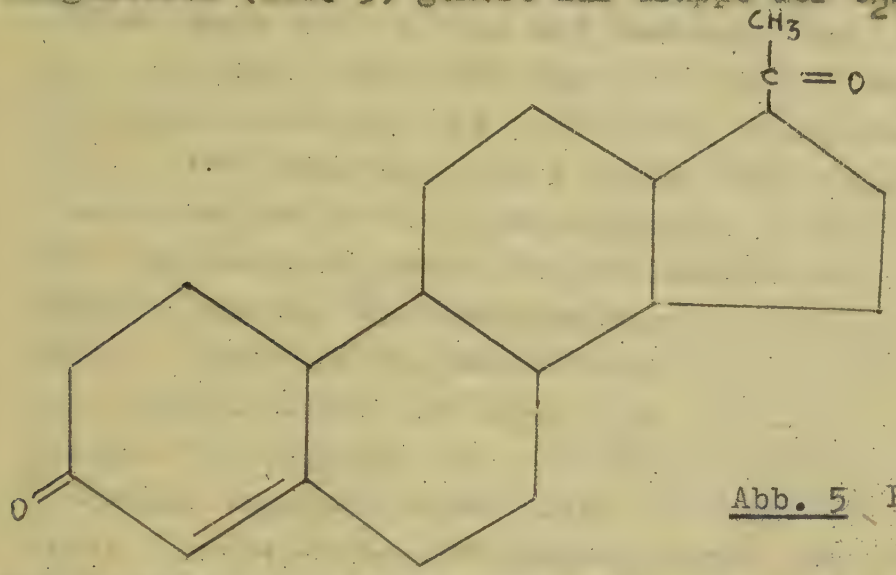



Abb. 5 Progesteron

Es wird überwiegend im Corpus Luteum gebildet. Während der Schwangerschaft wird dieses Gestagen hauptsächlich in der Placenta produziert. In geringen Mengen wird es auch als Zwischenprodukt in der Nebenniere gebildet. (59)
Die Inaktivierung erfolgt ebenso wie bei den Östrogenen vor allem in der Leber. Die Ausscheidung verläuft zum Teil als Natriumprägnandiolglukoronat im Harn, während ein anderer Teil mit den Fäzes eliminiert wird.

2. Gestagenwirkungen

A. Genitale Wirkungen

Der Genitaleinfluß der Gestagene tritt besonders am Endometrium des Uterus in Erscheinung. Es kommt hier zu einer sekretorischen Umwandlung, der Transformation, die vom Vorhandensein der Östrogene abhängig ist. Ohne eine vorangegangene östrogene Stimulierung bis zur Proliferation kann sich das Endometrium unter dem Einfluß der Gestagene nicht

transformieren. Als erste Wirkung ist eine Steigerung der Phosphatasenaktivität zu verzeichnen. Später kommt es zu einer Einlagerung von Glykogen in den Drüsenzellen und im Stroma. Weitere Stadien der zunehmenden Transformation unter dem Einfluß der Gestagene sind die Entfaltung des Golgi-Apparates, die sagobisttörmige Schlängelung der Drüsenschläuche und die Ausbildung von Spiralarterien. Während der Schwangerschaft wirkt Progesteron auf das Myometrium des Uterus ruhigstellend. An der Cervix wird die Sekretbildung unter Progesteroneinfluß deutlich geringer, und das Farnkrautphänomen verschwindet. Es kommt also zu einer Zunahme der Viskosität des Zervixschleims. Am Scheidenepithel ist ebenfalls ein Intermediärtest vorhanden der Art, daß man beim Vaginalabstrich die Zellen in Haufen zusammenliegen sieht und ihre Ränder gefaltet sind. Die Sprossung der Drüsenalveolen und die Bildung von Kolostrum in den Acinus während der Schwangerschaft geschieht vorwiegend unter Progesteroneinfluß. (36)

## 6. Extragenitale Wirkungen

Allgemein wird eine mehr oder weniger entgegengesetzte Wirkung zu den Östrogenen angenommen. So sollen die Gestagene auf das vegetative Nervensystem einen parasympathikotropen Einfluß besitzen, und im Gegensatz zu den Östrogenen wird von ihnen angenommen, daß sie die Diurese fördern.

JUNKMANN (37) konnte 1964 bei seinen Untersuchungen von Nebenwirkungen der Gestagene, die in Ovulationshemmern enthalten sind, interessante Ergebnisse vorlegen. Er stellte fest, daß Chlormadinonacetat, ein Derivat des 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronacetats mit einer $\alpha$-ständigen Acetoxygruppe am Kohlenstoffatom $C_{17}$ und einer Doppelbindung zwischen den

Kohlenstoffatomen $C_6$ und $C_7$ sowie einem Chloratom in der Position 6, also 6-Chlor-6-dehydro-17α-progesteronacetat (Abb. 6), an der hatte einem

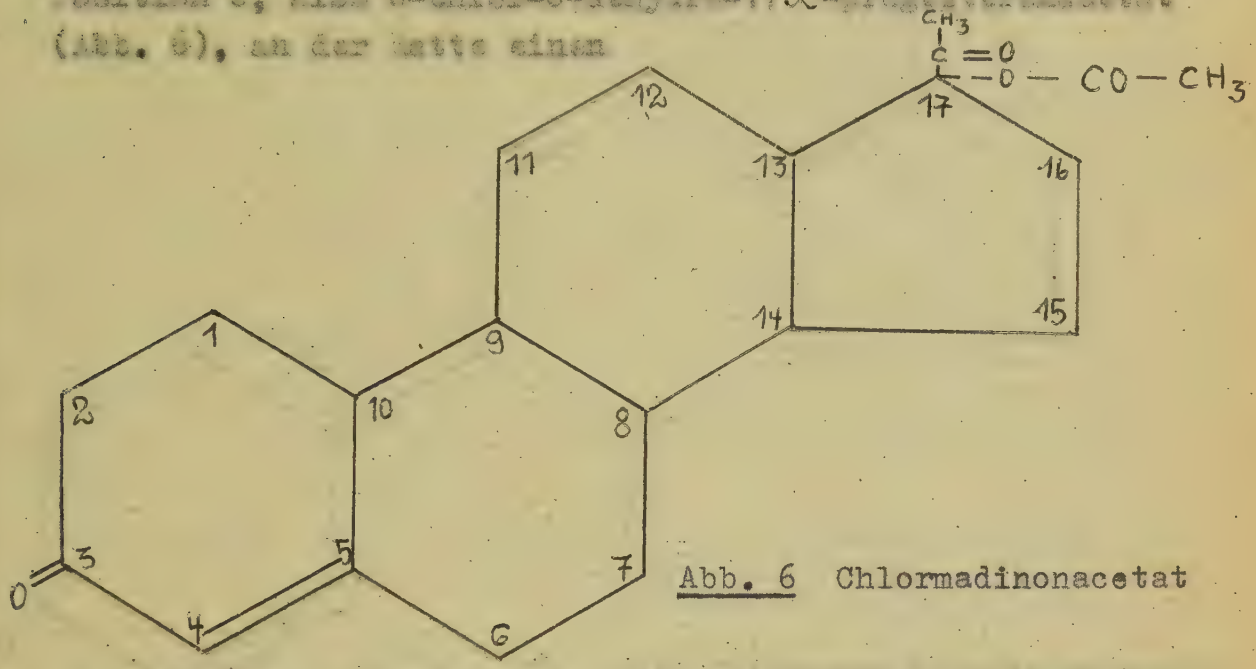
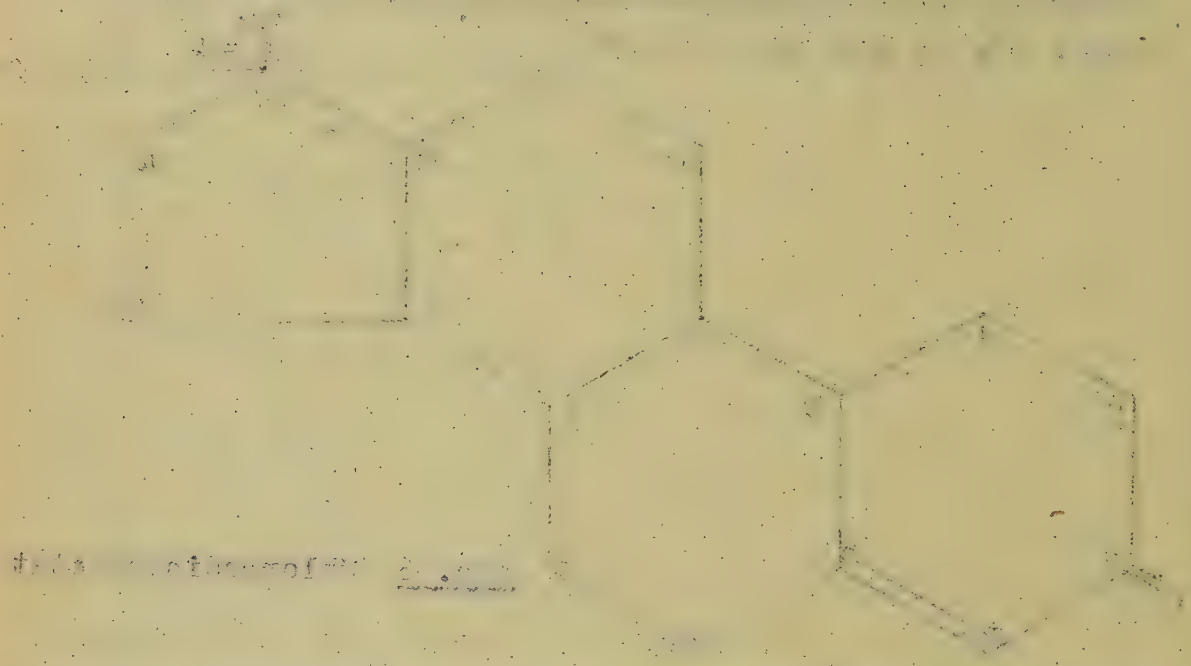



Abb. 6 Chlormadinonacetat

signifikanten Nebennierengewichtverlust in Form einer Atrophie hervorruft. Bei den anderen untersuchten Gestagenen wurde kein Einfluß auf das Nebennierengewicht bei Ratten festgestellt. Vor allem bei 19-nor-Testosteronderivaten, in hohen Dosen verabfolgt, traten gelegentlich virilisierende und anabole Erscheinungen auf.
[illegible] und Mitarbeiter (23) konnten 1971 ebenfalls bei Untersuchungen der hypothalamischen Differenzierungsphase bei Mäusen gleiche Ergebnisse erzielen. Bei ihnen riefen auch hohe Dosen von Chlormadinonacetat, die während der hypothalamischen Differenzierungsphase gegeben wurden, an männlichen Mäusen signifikante Nebennierengewichtverluste hervor. Diese hochgradigen Gewichtsreduktionen wurden ebenfalls durch tägliche Gaben von Chlormadinonacetat bei infantilen Mäusen erreicht.
Anders Forscher konnten vor allem bei Untersuchungen über die Wirkungsweise von Medroxyprogesteronacetat (Abb. 7)



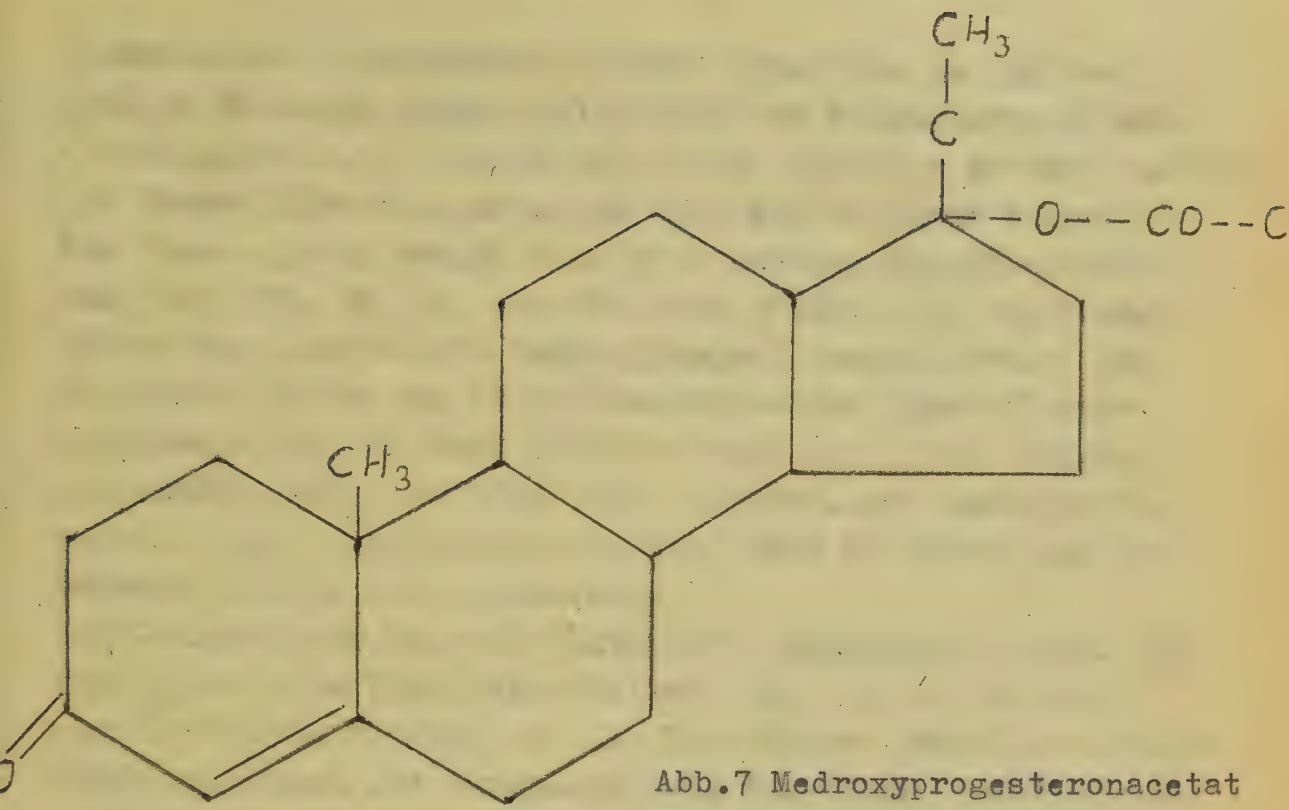
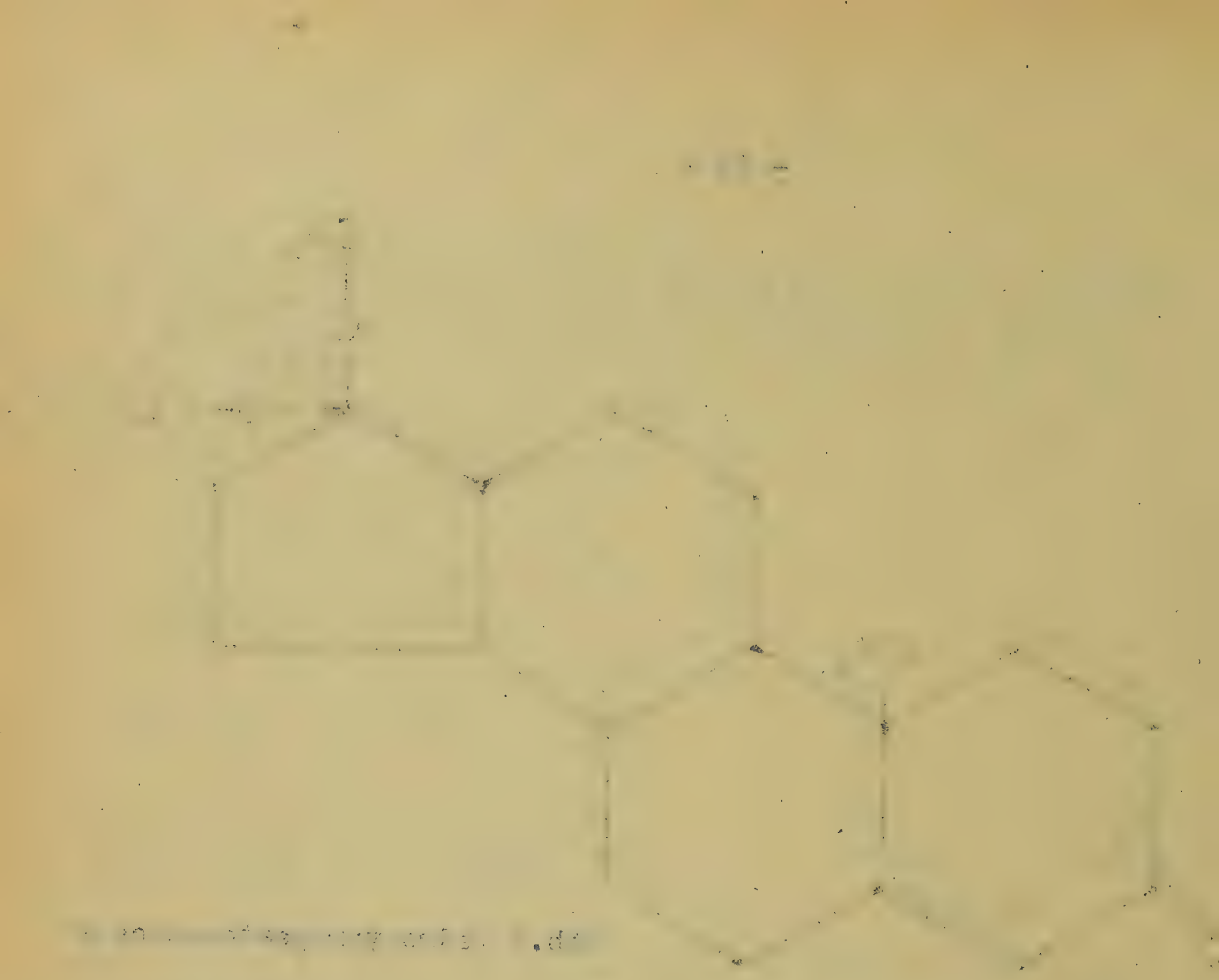



Abb.7 Medroxyprogesteronacetat

interessante Ergebnisse erzielen. So fanden CAMMANI & Mitarbeiter (12), die bei nebennierenektomierten Patienten die notwendige Corticoid-Therapie durch Medroxyprogesteronacetat, einem Steroid mit Pregnanstruktur, ersetzten, daß dieses Gestagen kortisonähnliche Eigenschaften besitzt. Es wurde wie durch Cortisol eine klinische Kompensation im Zustand der Patienten erreicht. Außerdem konnten sie tierexperimentell durch Medroxyprogesteronacetat bei Ratten eine ausgeprägte Nebennieren-Atrophie erzeugen. Es wurde festgestellt, daß dieses Gestagen glykogenetische Eigenschaften besitzt, wenn auch nicht so stark, wie sie beim Cortisol ausgeprägt sind und im Tierversuch an Ratten starke Nebennierenatrophie hervorruft. Andererseits bewirken Nor-Testosteronderivate wie Noräthinodrel und Noräthisteron bei ihrer parenteralen Anwendung an Ratten keine signifikanten Nebennieren-Gewichtsverluste (24, 37).



Interessante Beobachtungen wurden ebenfalls in jüngster Zeit am Menschen durch Applikation von Medroxyprogesteronacetat gemacht. 11 Kinder mit echter Pubertas praecox wurden mit diesem Steroid über einen längeren Zeitraum behandelt. Bei 8 von diesen zeigte sich eine gewisse Nebennierenhemmung der Art, wie sie auch bei der Prednisontherapie auftreten kann. Durch die Medroxyprogesteronapplikation kam es zusätzlich zu dem therapieausnutzenden Hypothalamus-Gonadeneinfluß zu einer glukokorticoidähnlichen Wirkung. Die Ausschüttung von ACTH wurde gehemmt, und dadurch entwickelte sich zwangsläufig bedingt eine Einschränkung der Nebennierenrindenfunktion (65).

Auf Grund dieser Beobachtungen kann angenommen werden, daß Gestagene außer ihrer Hypothalamus-Gonadenbeeinflussung auch noch eine Wirkung auf die Hypophysen-Nebennieren-Achse besitzen. Dabei ist bemerkenswert, daß dieser Nebennierenein fluß, der sich im Tierversuch als eine eindeutig hemmende Wirkung äußert, nur durch ganz bestimmte Gestagene hervorgerufen wird. Es sind dies die Derivate des 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronacetates, die hemmend im Tierversuch und wie die Ergebnisse mit Medroxyprogesteronacetat zeigen, wohl auch beim Menschen wirken.

Bei den Östran bzw. 19-nor-Testosteronderivaten, den $C_{19}$ Steroiden, konnten diese Wirkungen nicht nachgewiesen werden. Bei ihrer Verwendung im Tierversuch wurde weder ein fördernder noch hemmender Einfluß festgestellt. (24, 37)

Aus diesen Befunden kann daher geschlußfolgert werden, daß sich beide Stoffklassen trotz ihrer gemeinsam stark ausgeprägten Progestagenwirkung in ihren Auswirkungen auf extragenitale Organe, insbesondere auf die Nebenniere, entgegengesetzt verhalten.

Problemstellung

Gestagene, die sich von Derivaten des 17α-Hydroxyprogesteronacetats ableiten, zeigen im Tierversuch eine eindeutige Hemmung der Nebennierenrindenfunktion, die sich bis zur Atrophie auswirken kann.(23, 36, 26).
Dagegen konnten bei Gestagenen, die Abkömmlinge des 19 nor-Testosteron darstellen, solche Nebenwirkungen auf die Nebennierenrindenfunktion im Tierversuch nicht nachgewiesen werden (24, 37).
Der Gestagenanteil in dem Ovulationshemmer Ovosiston ist Chlormadinonacetat, ein Derivat des 17α-Hydroxyprogesteronacetats. Die Gestagenkomponente des Kontrazeptivums Norlestrin ist Norethisteronacetat, ein Abkömmling des 19 nor-Testosterons. Bei der vielseitigen Anwendung dieser Ovulationshemmer sollte untersucht werden, ob diese Präparate einen Einfluß auf die menschliche Nebenniere ausüben.
Diese Untersuchung wird jedoch durch die Tatsache erschwert, daß Ovulationshemmer eine Kombination von Gestagenen und Östrogenen sind und von letzterer bekannt ist, daß sie sowohl im Tierversuch als auch am Menschen eine stimulierende Nebenwirkung auf die Nebennierenrindenfunktion besitzen. Deshalb könnte es durch den Einfluß von Ovulationshemmern zu folgenden Nebenwirkungen kommen:

1. Eine Stimulierung der Nebennierenrindenfunktion durch den Einfluß der Östrogene.
2. Eine Hemmung durch Überwiegen des Gestageneinflusses.
3. Keine meßbaren Veränderungen durch Kompensation der entgegengesetzten Wirkungen von Gestagenen und Östrogenen.

Zur Lösung dieser Fragestellung soll vor allem auch die Sequentialtherapie herangezogen werden.
Bei dieser Therapie wird das Sequenz-Ovosiston verwendet, bei der in der ersten Phase des Zyklus nur Östrogene allein verabreicht werden und in der zweiten Phase eine kombinierte

Einnahme von Gestagenen und Oestrogenen. Die menschliche Nebennierenrindenfunktion soll durch die Bestimmung von Cortisol, nach der von GRILL & DIEMER (77) entwickelten Methode beurteilt werden. Das Prinzip dieser Bestimmung ist die empfindliche Fluoreszenzreaktion von Cortisol, die durch noch konzentrierte Schwefelsäure angeregt wird. Cortisol und Corticosteron machen beim Menschen ca. 85 % aller von der Nebennierenrinde sezernierten Hormone aus. Nur 5 - 10 % der im Blut zirkulierenden Glukokortikoide sind nicht eiweißgebunden. Sie stellen somit die biologisch aktive Fraktion dar. 90 - 95 % sind an ein spezifisches $\alpha_1$-Globulin, dem Transcortin gebunden. Dadurch sind sie biologisch inaktiv (50, 66, 71). Im Harn können nur die nichteiweißgebundenen Glukokortikoide über die Niere ausgeschieden werden. Somit stellen die im Urin erfaßbaren unkonjugierten Corticoide ein Maß für die ungebundenen und somit biologisch aktiven Plasmaglukokortikoide dar (9, 13). Durch diese Methode ist daher eine exakte Beurteilung der menschlichen Nebennierenrindenfunktion gegeben.
Bei der Bestimmung von Cortisol im Plasma werden sowohl die freien, aktiven als auch die an Eiweiß gebundenen und dementsprechend inaktiven Glukokortikoide erfaßt.

C. Material und Methode

I. Material

1) Harn von Frauen, die keine Ovulationshemmer eingenommen haben.

2) Harn von Frauen, die regelmäßig den Ovulationshemmer Ovesiston eingenommen haben.

Dieses Kontrazeptivum enthält als Gestagenanteil 2 mg 6-Chlor-17$\alpha$-hydroxy-4,6-pregnandien-3,20-dion-acetat (Chlormadinonacetat) und 0,08 mg 3-Methoxy-17$\alpha$-äthynyl-1,3, 5 (10)-Östratrien-17$\beta$-ol (Mestranol). Dieser Einphasenovulationshemmer wird während des Zyklus 21 Tage regelmäßig eingenommen. Anschließend erfolgt eine siebentägige Tablettenpause. Die kürzeste Einnahmezeit der Probandinnen betrug einen Monat, die längste knapp drei Jahre.

3) Harn von Frauen, die regelmäßig Non-Ovlon eingenommen haben.

Dieser Einphasenovulationshemmer ist eine Kombination von 1 mg Norithisteronacetat, einem 19 nor-Testosteronderivat und 0,08 mg Mestranol als Östrogenbestandteil. Dieses Kontrazeptivum wird ebenfalls über den gesamten Zyklus, außer einer siebentägigen Tablettenpause, eingenommen.

4) Harn von Frauen, denen der Zweiphasenovulationshemmer Sequenz-Ovesiston verabreicht wurde.

Hierbei wird vom 1. bis 14. Tag eine alleinige Dosis von 0,10 mg Mestranol pro die gegeben. Vom 15. bis 21. Tag eine Kombination von 2 mg Chlormadinonacetat

und 0,08 mg Mestranol. Bei der Sequential-Therapie wurde ebenfalls eine siebentägige Tablettenpause eingehalten.

5) Der Harn von Probandinnen, die diese verschiedenen Ovulationshemmer einnahmen, wurde nach folgendem Modus gesammelt:
Die Urinsammlung beginnt mit entleerter Blase, d. h. der Morgenharn wird verworfen. Die Urinsammlung erstreckt sich jetzt über 24 Stunden bis zum nächsten Morgen. Der Harn nach dem Aufstehen wird jetzt aufgefangen. Dabei ist jedoch zu beachten, daß sämtlicher während des Tages anfallender Urin gesammelt wird. Diese exakte Harnsammlung ist notwendig, um genaue Cortisolwerte zu erhalten. Ein weiteres Kriterium für die exakte Cortisolbestimmung im Harn ist die intakte Nierenfunktion. Deshalb wurden nur nierengesunde Probandinnen für die Sammlung des 24 Stunden Urins genommen. Der so gewonnene Harn wurde bei - 20° C eingefroren und später entsprechend aufbereitet (siehe ausführlich in Methode) und die Cortisolbestimmung wie erläutert durchgeführt.
Bei den Probandinnen, die Sequenz-Ovosiston einnahmen, wurden zwei Urinsammlungen durchgeführt, die erste während der alleinigen Mestranolbehandlung und die zweite unter der Kombination im letzten Drittel des Zyklus.

6) Die Plasmagewinnung wurde folgendermaßen durchgeführt:
Frauen in der Ovosistonsprechstunde wurde 10 ml Venenblut mittels einer iv-Kanüle aus der Armbeuge entnommen. Das so gewonnene Blut wurde in ein Spitzröhrchen gegeben. Dessen innere Glaswände wurden vorher mit Heparin gleichmäßig benetzt. Dadurch wurde ein Gerinnen des hineingefüllten Venenblutes vermieden. Danach wurden die so vorbereiteten Spitzröhrchen mit Inhalt in eine Zentrifuge gegeben und bei mittleren Umdrehungen das Plasma gewonnen.

Die weitere Aufbereitung und Messung erfolgte in der gleichen Art und Weise wie beim Sammelurin.

II. Methode

Die Grundlage der verwendeten Methode ist die empfindliche Fluoreszenzreaktion von Cortisol nach Zugabe hochkonz. $H_2SO_4$. Diese Eigenschaft dient bei dieser Methode als chemischer Nachweis. Cortisol in schwefelsaurer Lösung zeigt ein ganz typisches Anregungs- und Emissionsspektrum. Das Maximum des Anregungslichtes wurde nahezu übereinstimmend bei 470 nm und das des Emissionslichtes bei 530 nm angegeben. (7, 33, 72)

Die Schwefelsäure für die quantitative fluorometrische Bestimmung wird durch Mischen mit Äthylalkohol hergestellt. Die alkoholischen Gemische haben wesentliche Vorteile gegenüber wäßrigen. (8) Sie bewirken eine höhere Fluoreszenintensität und haben ein wesentlich besseres Lösungsvermögen für Cortisol und Corticosteron. Die Fluoreszenzmessungen werden mit dem Photometer "Eppendorf" durchgeführt. Dieses Routinephotometer ist mit einer Quecksilberlampe und den dazugehörigen Filtern ausgerüstet.
Phenolische Steroide (Östrogene) und Steroidcarbonsäuren (Gallensäuren) lassen sich aus den Extrakten durch Ausschütteln mit 0,1 - 2,5 n NaOH (0,1 - 0,3 Vol) entfernen. (51) Für die Extraktion von Cortisol und Corticosteron aus Plasma und Harn werden daher folgende Verfahren angewendet: Vorreinigung mit 4 Volumen Petroläther, Verdünnung mit 1 Volumen Wasser, einmalige Extraktion mit 1,5 Volumen Methylenchlorid und Waschen des Extraktes mit 0,1 Volumen 0,1 n Natronlauge. Die unspezifischen Hintergrundfluoreszenzen, die sich als scheinbare Cortisolwerte im Harn und Plasma bemerkbar machen, werden durch folgende Maßnahmen ausgeschaltet: An Stelle der direkt gemessenen Fluoreszenzintensität wird

der Fluoreszenzanstieg zwischen zwei exakt gemessenen Zeitpunkten benutzt. Aus praktischen Gründen wurde dieser Zeitpunkt bei 2 und 5 Minuten festgelegt.
In Harn und Plasma und in den Leerwerten berechnet sich der durchschnittliche Anstieg der unspezifischen Hintergrundfluoreszenz zu $K = I_5/I_2 = 1,11$. Um einer Überkorrektur vorzubeugen, wurde $K = 1,1$ als empirischer Faktor für den Anstieg der unspezifischen Fluorogene zwischen 2 und 5 min festgelegt. Unter Berücksichtigung dieses Faktors K und der Differenz zwischen den nach 2 und 5 min gemessenen Fluoreszenzintensitäten werden die unspezifischen Fluorogene nach dieser Korrekturformel fast völlig eliminiert: $S = I_5 - I_2 . K$.

S = Parameter für die spezifische Fluoreszenz von Cortisol und Corticosteron.
$I_2$ $I_5$ = gemessene Fluoreszenzintensität nach 2 und 5 min.
K = Empirischer Faktor auf Grund von Bestimmungen in Körperflüssigkeiten adrenalektomierter Patienten und Tiere sowie von Reagenzienleerwerten.

Aus dem vorhergesagten ergeben sich folgende Arbeitsvorschriften für die fluorometrische Bestimmung der 11-OH-Corticosteroide in Körperflüssigkeiten:

I. Reagenzien

1. Petroläther p. a. (Siedepunkt 40 - 60°C)
500 ml Petroläther werden mit je 100 ml konz. $H_2SO_4$ geschüttelt, bis keine Gelbfärbung der Schwefelsäure mehr auftritt (Spritzgefahr: Vorsicht). Danach wird zweimal mit dest. Wasser gewaschen, mit $Na_2SO_4$ getrocknet und destiliert.

2. Methylenchlorid p.a.
500 ml Methylenchlorid werden einmal mit 100 ml 1 n NaOH und zweimal mit je 100 ml Wasser gewaschen.

Daraufhin mit 200 ml 30 n $H_2SO_4$ geschüttelt, wieder mit je 200 ml dest. Wasser gewaschen und anschließend mit $Na_2SO_4$ getrocknet und destilliert.

3. 0,1 n Natronlauge

4. Äthanol p. a.
1000 ml abs. Äthanol werden mit 2 g 2,4 Dinitrophenylhydrazin und 0,5 ml konz. HCL 2 Std. am Rückfluß gekocht und anschließend sorgfältig destilliert.

5. Äthanol-Schwefelsäuremischung (3 : 7)
Zu 30 ml abs. Äthanol werden sehr langsam unter kräftigem Schwenken und Kühlung unter fließendem Wasser 70 ml konz. $H_2SO_4$ gegeben. Die Mischung wird im Kühlschrank aufbewahrt.

6. Cortisol-Standardlösung
Durch Auflösen von 2,5 mg Cortisol in 25 ml abs. Äthanol wird zuerst eine Stammlösung hergestellt. 1 ml dieser Stammlösung ergibt bei Verdünnung mit dest. Wasser auf 100 ml die Standardlösung mit 1 Cortisol/ml.

## II. Apparatur

Photometer Eppendorf mit Fluoreszenzzusatz unter Verwendung eines Primärfilters von 436 nm für die Anregungsstrahlung von 520 - 570 nm für die Fluoreszenzstrahlung.

## III. Arbeitsvorschrift

5 ml Harn oder Plasma werden mit 20 ml Petroläther geschüttelt, sorgfältig abgetrennt und mit 5 ml dest. Wasser verdünnt. Die gewaschene Körperflüssigkeit wird dann mit 15 ml Methylenchlorid 5 min durch mechanisches Schütteln extrahiert, der abgetrennte Methylenchloridextrakt mit 1 ml 0. I n NaOH gewaschen und die Natronlaugeschicht

abgetrennt. Zur fluorometrischen Bestimmung werden 10 ml des gewaschenen Methylenchloridextraktes mit 3,5 ml alkohol. Schwefelsäure 30 sec. kräftig gescheitelt. Nach Trennung der Phasen wird die untere Schwefelsäureschicht in eine Elvette abgelassen. Die Fluoreszenzmessungen werden genau nach 2 min ($I_{2\ min}$) und 5 min ($I_{5\ min}$) vom Zeitpunkt der Zugabe der Schwefelsäure an gerechnet (Zeitmessung durch Stoppuhr mit Beginn des Schüttelns) vorgenommen. Zur Fluoreszenzanregung dient die Hg-Linie 436 nm einer Hg-Lampe. Die Fluoreszenzstrahlung wird mit dem Filter 520 - 570 nm isoliert. Nach Hinzufügen der alkohol. Schwefelsäure sollte die Untersuchungslösung möglichst auf Zimmertemperatur (18 - 22° C) gehalten werden. Durch Vorkühlung der alkohol. Schwefelsäure kann die geringe Reaktionswärme, die bei Zugabe der Schwefelsäure auftritt, annähernd ausgeglichen werden.

Die Korrektur der gemessenen Fluoreszenzintensitäten erfolgt nach folgender Formel:

$$S = I_{5\ min} - I_{2\ min} \cdot 1{,}1$$

Dabei sind $S$ = Spezifische Fluoreszenz nach 5 min,

$I_{5\ min}$

und $I_{2\ min}$ Gemessene Fluoreszenzintensität nach 5 bzw. 2 Minuten.

Mit Hilfe einer Eichkurve, die mittels oben angeführter Formel erstellt wird, ergibt die korrigierte Fluoreszenz S die entsprechende Menge Cortisoläquivalente.
Bei geringen Konzentrationen (18 µg/ 24 h sowie bei Harnvolumina über 1000 ml/ 24 h) wurde eine Bestimmung in 10 ml unverdünntem Harn und bei stark erhöhten Harnwerten (über 250 µg/24 h) wurde die Bestimmung mit einem ml Harn und 4 ml dest. Wasser wiederholt.

Ergebnisse

I. Cortisolbestimmung im 24-Stunden-Sammelurin von Frauen, die nicht unter Kontrazeptiva-Einfluß standen

Die gemessenen 30 Werte dieser Probandinnen ergeben einen Mittelwert von 37,0 ± 5,9 µg/24 Stunden. (Siehe Tabelle I) Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Normalwerten des Instituts und auch anderer Autoren bei der Festlegung eines Durchschnittswertes der 17-OHCS-Ausscheidung im Harn gesunder unbehandelter Frauen. Die einzelnen gemessenen Werte sind im Anhang aufgeführt.

1.1. Cortisolbestimmung im Plasma von Probandinnen, die nicht unter Kontrazeptivaeinfluß standen

Bei 50 Frauen wurde ein Mittelwert von 9,5 ± 2,6 µg/100 ml gefunden. Dieses Ergebnis zeigt ebenfalls Übereinstimmung mit den Werten anderer Autoren.

II. Cortisolbestimmung im 24-Stunden-Sammelurin von Frauen, die unter Ovulationseinfluß standen

Die Bestimmung der 17-OHCS im Urin von 60 Frauen ergibt einen Mittelwert von 25,4 ± 8,2 µg/24 h. (Tabelle I) Die durchgeführte statistische Mittelwertberechnung erweist sich gegenüber dem Durchschnittswert von 37,0 ± 5,9 µg/24 h unbehandelter Frauen als signifikant ($p < 0{,}001$). Die gemessenen Werte der einzelnen Probandinnen sind im Anhang aufgeführt.

1.1. Cortisolbestimmung im Plasma von Probandinnen, die Ovulationshemmer einnahmen

Bei 20 Frauen ergab die Cortisolbestimmung im Plasma einen Mittelwert von 12,4 ± 6,8 µg/100 ml gegenüber einem Durchschnittswert von 9,5±2,6 µg/100 ml bei

30 unbehandelten Probandinnen. Unter Ovosiston wurde ein Anstieg des Plasmacortisols auf das 1,62fache gegenüber normal menstruierenden Frauen nachgewiesen.

III. Cortisolbestimmung im 24-Stunden-Sammelurin von Probandinnen, die unter Sequenz-Ovosistoneinfluß standen

1. 11-OHCS-Bestimmung während der alleinigen Nestranolbehandlung in der 1. Phase

Hier wurde bei 10 Frauen ein Mittelwert von 37,8 ± 8,1 µg/24 h gemessen (Tabelle I), der sich als nicht signifikant gegenüber dem Durchschnittswert unbehandelter Probandinnen erweist. Die einzelnen Werte sind im Anhang dargestellt.

1.1. 11-OHCS-Bestimmung in der 2. Phase der kombinierten Therapie mit Gestagenen und Östrogenen

Unter dieser Behandlung wurde bei den 10 Frauen ein Mittelwert von 24,0 ± 5,9 µg/24 h gefunden. Dieses Ergebnis erweist sich als signifikant ($p < 0,001$) gegenüber dem Mittelwert unter der alleinigen Östrogentherapie in der 1. Phase. Die gemessenen Werte der einzelnen Probandinnen sind im Anhang aufgeführt.

IV. Cortisolbestimmung im 24-Stunden-Sammelurin von Frauen, die sich unter Non-Ovloneinfluß befanden

Die Bestimmung der 11-OHCS im Urin von 20 Probandinnen ergibt einen Mittelwert von 37,6 ± 14,4 µg/24 h. (Tabelle I) Dieses Ergebnis unterscheidet sich nicht signifikant gegenüber einem Mittelwert von 37,0 ± 5,9 µg/24 h unbehandelter Frauen. Die gemessenen einzelnen Werte sind im Anhang dargestellt.

Tabelle I

| Ovulationshemmer | Anzahl der Probandinnen | Material | Mittelwert von Cortisol | ± Standardabweichung |
|---|---|---|---|---|
| Leerwerte | 30 | 24h-Sammelurin | 37,0 µg/24h | ± 5,9 |
| Leerwerte | 50 | Plasma | 9,5 µg/100 | ± 2,6 |
| Ovosiston: 2mg Chlormadinonacetat + 0,08 mg Oestradiol | 60 | 24 h-Sammelurin | 25,4 µg/24h | ± 8,2 |
| Ovosiston | 20 | Plasma | 15,1 µg/100 | ± 6,2 |
| Sequenz-Ovosiston I.Phase : Oestradiol | 10 | 24 h-Sammelurin | 38,8 µg/24 h | ± 8,1 |
| Sequenz-Ovosiston II. Phase: Chlormadinonacetat + Oestradiol | 10 | 24 h-Sammelurin | 24,0 µg/24 h | ± 5,9 |
| Non-Ovlon 1 mg Norethisteronacetat + 0,08 mg Oestradiol | 20 | 24 h-Sammelurin | 37,6 µg/24 h | ± 14,4 |

Tabelle II Cortisolbestimmung im 24 h - Urin von Frauen die nicht unter Ovulationshemmung standen

| Name | Alter | Material | Cortisol in µg/24 h |
|---|---|---|---|
| K. L. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 29,3 µg/24 h |
| S. M. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 38,3 µg/24 h |
| B. S. | 23 Jahre | 24 h Sammelurin | 33,0 µg/24 h |
| D. K. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 33,6 µg/24 h |
| A. F. | 21 Jahre | 24 h Sammelurin | 35,7 µg/24 h |
| K. M. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 33,0 µg/24 h |
| V. G. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 38,2 µg/24 h |
| I. T. | 22 Jahre | 24 h Sammelurin | 30,2 µg/24 h |
| L. U. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 39,6 µg/24 h |
| S. S. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 35,8 µg/24 h |

Tabelle II Fortsetzung

| Name | Alter | Material | Cortisol in µg / 24 h |
|---|---|---|---|
| A. K. | 21 Jahre | 24 h Sammelurin | 36.7 µg / 24 h |
| G. B. | 22 Jahre | 24 h Sammelurin | 52.6 µg / 24 h |
| V. R. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 61.7 µg / 24 h |
| R. J. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 37.3 µg / 24 h |
| G. G. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 40.4 µg / 24 h |
| H. M. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 35.7 µg / 24 h |
| B. F. | 21 Jahre | 24 h Sammelurin | 35.7 µg / 24 h |
| K. S. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 40.6 µg / 24 h |
| E. T. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 37.4 µg / 24 h |
| U. R. | 21 Jahre | 24 h Sammelurin | 33.7 µg / 24 h |

Tabelle II Fortsetzung

| Name | Alter | Material | Cortisol in µg / 24 h |
|---|---|---|---|
| C. L. | 24 Jahre | 24 h Sammelurin | 38,6 µg / 24 h |
| M. S. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 38,3 µg / 24 h |
| K. M. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 30,6 µg / 24 h |
| K. W. | 21 Jahre | 24 h Sammelurin | 33,5 µg / 24 h |
| S. C. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 51,5 µg / 24 h |
| D. C. | 20 Jahre | 24 h Sammelurin | 61,0 µg / 24 h |
| O. K. | 22 Jahre | 24 h Sammelurin | 34,9 µg / 24 h |
| K. K. | 18 Jahre | 24 h Sammelurin | 22,4 µg / 24 h |
| B. S. | 19 Jahre | 24 h Sammelurin | 26,4 µg / 24 h |
| K. I. | 23 Jahre | 24 h Sammelurin | 37,1 µg / 24 h |

Mittelwert ± Standardabweichung 37,0 ± 5,9 µg / 24 h

Tabelle III Cortisolbestimmung im 24 h - Urin von Frauen die unter Ovesistoneinfluß standen

| Name | Alter | Dauer der Ovesiston-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. S. | 26 Jahre | 2 Jahre | 12. Tag | 24 h Sammel-urin | 34,5 µg/ 24 h |
| A. W. | 23 Jahre | 2 Jahre | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 24,8 µg/ 24 h |
| B. B. | 22 Jahre | 1 1/4 Jahre | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 41,7 µg/ 24 h |
| B. B. | 26 Jahre | 8 Monate | 10. Tag | 24 h Sammel-urin | 22,7 µg/ 24 h |
| R. S. | 24 Jahre | 4 Monate | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 43,7 µg/ 24 h |
| S. S. | 20 Jahre | 2 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 8,4 µg/ 24 h |
| B. M. | 28 Jahre | 2 Jahre | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 26,5 µg/ 24 h |
| R. F. | 30 Jahre | 11 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 15,6 µg/ 24 h |
| D. G. | 23 Jahre | 1 Jahr | 10. Tag | 24 h Sammel-urin | 44,5 µg/ 24 h |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosiston-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| C. W. | 23 Jahre | 1 Jahr + 5 Monate | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,7 µg/ 24 |
| R. A. | 19 Jahre | 9 Monate | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,4 µg/ 24 |
| M. L. | 22 Jahre | 1 Monat | 22. Tag (I. Tag in der Tbl. Pause) | 24 h Sammel-urin | 42,8 µg/ 24 |
| D. P. | 23 Jahre | 2 Jahre + 4 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 21,5 µg/ 24 |
| M. I. | 18 Jahre | 1 Monat | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 25,0 µg/ 24 |
| G. M. | 26 Jahre | 1 Jahr + 4 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 35,9 µg/ 24 |
| D. S. | 23 Jahre | 2 Jahre | 21. Tag in der 7tägg. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 32,5 µg/ 24 |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosistonein-nahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol i µg in 24 |
|---|---|---|---|---|---|
| V. K. | 19 Jahre | 8 Monate | 21. Tag in der 7tlg. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 30,3 µg/ 2 |
| U. L. | 21 Jahre | 2 Jahre + 1 Monat | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 33,6 µg/ 2 |
| E. R. | 28 Jahre | 6 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 37,2 µg/ 2 |
| G. M. | 20 Jahre | 1 Jahr + 2 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,9 µg/ 2 |
| P. K. | 22 Jahre | 2 Jahre + 6 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,2 µg/ 2 |
| C. S. | 19 Jahre | 10 Monate | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 25,8 µg/ 2 |
| K. H. | 25 Jahre | 2 Jahre + 10 Monate | 18. | 24 h Sammel-urin | 26,4 µg/ 2 |
| Mittelwert ± Standardabweichung | | | | | 25,4 ± 6,2 µg / 24 h |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosiston-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. T. | 19 Jahre | 9 Monate | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 21,0 µg/ 24 |
| G. T. | 19 Jahre | 9 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 26,4 µg/ 24 |
| R. R. | 23 Jahre | 2 Jahre + 3 Monate | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 11,5 µg/ 24 |
| B. N. | 28 Jahre | 2 Jahre + 5 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 24,6 µg/ 24 |
| M. P. | 20 Jahre | 1 Jahr + 9 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 27,4 µg/ 24 |
| A. S. | 24 Jahre | 2 Jahre | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,0 µg/ 24 |
| D. M. | 21 Jahre | 10 Monate | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 21,5 µg/ 24 |
| A. M. | 25 Jahre | 1 Jahr + 7 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 12,6 µg/ 24 |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosistonein-nahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. K. | 29 Jahre | 2 Jahre | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,0 µg/ 24h |
| U. K. | 22 Jahre | 2 Jahre + 7 Monate | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 28,9 µg/ 24h |
| K. R. | 26 Jahre | 2 Jahre + 3 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 16,8 µg/ 24h |
| V. K. | 19 Jahre | 6 Monate | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,5 µg/ 24h |
| J. K. | 20 Jahre | 4 Monate | 1. Tag in der 7tlg. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 30,7 µg/ 24h |
| K. F. | 19 Jahre | 4 Monate | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 20,5 µg/ 24h |
| R. I. | 18 Jahre | 1 Monat | 1. Tag in der 7tlg. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 12,3 µg/ 24h |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosiston-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol i µg in 24 |
|---|---|---|---|---|---|
| E. S. | 25 Jahre | 2 Jahre | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 30,0 µg/2 |
| O. C. | 22 Jahre | 9 Monate | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,2 µg/2 |
| C. U. | 28 Jahre | 2 Jahre + 6 Monate | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 20,0 µg/2 |
| C. U. | 26 Jahre | 2 Jahre + 6 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tbl. Pause | 24 h Sammel-urin | 31,9 µg/2 |
| B. M. | 22 Jahre | 1 Jahr | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 27,5 µg/2 |
| R. J. | 22 Jahre | 2 Jahre | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 30,3 µg/2 |
| K. S. | 26 Jahre | 11 Monate | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 16,8 µg/2 |
| K. S. | 22 Jahre | 11 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tabl. Pause | 24 h Sammel-urin | 19,8 µg/2 |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosistenteinnahme | Ttl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| M. L. | 31 Jahre | 2 Jahre | 1. Tag in der 7tägig. Tabl. Pause | 24 h Sammelurin | 22,0 µg/ 24 |
| H. L. | 22 Jahre | 2 Monate | 15. Tag | 24 h Sammelurin | 25,6 µg/ 24 |
| D. G. | 24 Jahre | 1 Jahr + 4 Monate | 21. Tag | 24 h Sammelurin | 20,5 µg/ 24 |
| B. S. | 22 Jahre | 2 Jahre | 17. Tag | 24 h Sammelurin | 22,9 µg/ 24 |
| G. K. | 27 Jahre | 2 Jahre + 3 Monate | 15. Tag | 24 h Sammelurin | 32,4 µg/ 24 |
| G. K. | 22 Jahre | 2 Jahre + 3 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tabl. Pause | 24 h Sammelurin | 33,0 µg/ 24 |
| H. G. | 26 Jahre | 2 Jahre | 21. Tag | 24 h Sammelurin | 25,5 µg/ 24 |

Tabelle III Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosistenteinnahme | Tabl. Tag | Material | Cortisol in ug in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| A. K. | 29 Jahre | 2 Jahre + 4 Monate | 19. Tag | 24 h Sammelurin | 33,1 µg/ 24h |
| M. G. | 21 Jahre | 11 Monate | 20. Tag | 24 h Sammelurin | 25,4 µg/ 24h |
| J. B. | 24 Jahre | 2 Jahre + 2 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tbl. Pause | 24 h Sammelurin | 20,4 µg/ 24h |
| I. W. | 23 Jahre | 2 Jahre | 21. Tag | 24 h Sammelurin | 21,3 µg/ 24h |
| R. A. | 20 Jahre | 6 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tbl. Pause | 24 h Sammelurin | 29,5 µg/ 24h |
| H. J. | 19 Jahre | 3 Monate | 1. Tag in der 7tägig. Tbl. Pause | 24 h Sammelurin | 30,7 µg/ 24h |

Mittelwert ± Standardabweichung 25,4 ± 8,2 µg/ 24 h

Tabelle IV Cortisolbestimmung im Plasma von Frauen die unter Ovosistoneinfluß standen

| Name | Alter | Dauer der Ovosistoneinnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg % |
|---|---|---|---|---|---|
| E. D. | 22 Jahre | 1 ½ Jahre | 15. Tag | 5 ml Plasma | 14,4 µg % |
| K. S. | 28 Jahre | 2 Jahre | 18. Tag | 5 ml Plasma | 11,2 µg % |
| M. R. | 19 Jahre | 7 Monate | 18. Tag | 5 ml Plasma | 13,4 µg % |
| V. M. | 21 Jahre | 10 Monate | 16. Tag | 5 ml Plasma | 10,5 µg % |
| M. M. | 20 Jahre | 1 Jahr + 4 Monate | 15. Tag | 5 ml Plasma | 15,2 µg % |
| G. W. | 24 Jahre | 2 Jahre | 16. Tag | 5 ml Plasma | 15,0 µg % |
| A. E. | 21 Jahre | 2 Monate | 14. Tag | 5 ml Plasma | 15,6 µg % |
| J. I. | 19 Jahre | 1 Jahr | 19. Tag | 5 ml Plasma | 14,4 µg % |
| R. M. | 23 Jahre | 8 Monate | 16. Tag | 5 ml Plasma | 22,0 µg % |
| O. S. | 20 Jahre | 1 Jahr + 6 Monate | 15. Tag | 5 ml Plasma | 13,4 µg % |

Tabelle IV Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Ovosistoneinnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg % |
|---|---|---|---|---|---|
| C. T. | 18 Jahre | 3 Monate | 16. Tag | 5 ml Plasma | 19,0 µg % |
| J. B. | 22 Jahre | 11 Monate | 18. Tag | 5 ml Plasma | 15,8 µg % |
| K. W. | 19 Jahre | 1 Jahr | 18. Tag | 5 ml Plasma | 10,6 µg % |
| B. S. | 25 Jahre | 2 Jahre + 5 Monate | 15. Tag | 5 ml Plasma | 10,4 µg % |
| A. M. | 27 Jahre | 1 Jahr + 2 Monate | 17. Tag | 5 ml Plasma | 10,2 µg % |
| R. K. | 22 Jahre | 8 Monate | 15. Tag | 5 ml Plasma | 19,0 µg % |
| T. E. | 26 Jahre | 2 Jahre + 6 Monate | 18. Tag | 5 ml Plasma | 16,4 µg % |
| I. N. | 18 Jahre | 3 Monate | 16. Tag | 5 ml Plasma | 18,4 µg % |
| D. R. | 22 Jahre | 2 Jahre | 15. Tag | 5 ml Plasma | 23,0 µg % |
| G. M. | 19 Jahre | 1 Jahr + | 18. Tag | 5 ml Plasma | 13,6 µg % |

Tabelle V Cortisolbestimmung im 24 h - Urin von Frauen
1. während der ersten Phase unter Sequenz-Ovosiston

| Name | Alter | Dauer der Sequenz-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. L. | 23 Jahre | ½ Jahr | 3. Tag | 24 h Sammel-urin | 37,2 µg/ 24h |
| C. M. | 28 Jahre | ¼ Jahr | 2. Tag | 24 h Sammel-urin | 53,0 µg/ 24h |
| V. S. | 23 Jahre | 1 Jahr | 3. Tag | 24 h Sammel-urin | 42,9 µg/ 24h |
| K. M. | 22 Jahre | 1 ¼ Jahr | 5. Tag | 24 h Sammel-urin | 35,5 µg/ 24h |
| B. G. | 25 Jahre | 1 Jahr | 2. Tag | 24 h Sammel-urin | 28,5 µg/ 24h |
| R. M. | 19 Jahre | ¼ Jahr | 3. Tag | 24 h Sammel-urin | 24,4 µg/ 24h |
| K. G. | 22 Jahre | ½ Jahr | 4. Tag | 24 h Sammel-urin | 40,4 µg/ 24h |
| B. S. | 25 Jahre | 1 Jahr | 5. Tag | 24 h Sammel-urin | 35,5 µg/ 24h |
| D. H. | 20 Jahre | ½ Jahr | 5. Tag | 24 h Sammel-urin | 42,5 µg/ 24h |
| A. K. | 27 Jahre | 1 ¼ Jahr | 3. Tag | 24 h Sammel-urin | 48,4 µg/ 24h |

Tabelle VI Cortisolbestimmung im 24 h - Urin derselben 2. Probandinnen während der zweiten Phase unter Sequenz-Ovosisten

| Name | Alter | Dauer der Einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. L. | 23 Jahre | ½ Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,1 µg/ 24h |
| C. M. | 28 Jahre | ¼ Jahr | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 24,0 µg/ 24h |
| V. S. | 23 Jahre | 1 Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 16,3 µg/ 24h |
| K. M. | 22 Jahre | 1 ¼ Jahr | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,5 µg/ 24h |
| B. G. | 25 Jahre | 1 Jahr | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 19,9 µg/ 24h |
| K. M. | 19 Jahre | ¼ Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 11,1 µg/ 24h |
| M. G. | 22 Jahre | ½ Jahr | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 21,2 µg/ 24h |
| B. S. | 25 Jahre | 1 Jahr | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,5 µg/ 24h |
| S. W. | 20 Jahre | ½ Jahr | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 34,3 µg/ 24h |
| A. K. | 27 Jahre | ¼ Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 23,1 µg/ 24h |

Mittelwert ± Standardabweichung 24,0 ± 7,9 µg/ 24 h

Tabelle VII Cortisolbestimmung im 24 h - Sammelurin von Frauen, die unter Non-Ovloneinfluß standen

| Name | Alter | Dauer der Non-Ovlon-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| B. K. | 30 Jahre | 1 Jahr | 11. Tag | 24 h Sammel-urin | 46,6 µg/ 24 h |
| A. S. | 23 Jahre | ¼ Jahr | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 25,5 µg/ 24 h |
| K. U. | 19 Jahre | ½ Jahr | 9. Tag | 24 h Sammel-urin | 35,3 µg/ 24 h |
| M. U. | 20 Jahre | ¼ Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 43,8 µg/ 24 h |
| B. F. | 26 Jahre | 1 ½ Jahr | 16. Tag | 24 h Sammel-urin | 20,9 µg/ 24 h |
| S. G. | 22 Jahre | 1 ¼ Jahr | 14. Tag | 24 h Sammel-urin | 34,9 µg/ 24 h |
| M. L. | 29 Jahre | 1 Jahr | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 51,5 µg/ 24 h |
| S. F. | 21 Jahre | ½ Jahr | 17. Tag | 24 h Sammel-urin | 49,5 µg/ 24 h |
| D. A. | 26 Jahre | 1 Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 26,2 µg/ 24 h |
| C. G. | 21 Jahre | ¼ Jahr | 20. Tag | 24 h Sammel-urin | 34,0 µg/ 24 h |

Tabelle VII Fortsetzung

| Name | Alter | Dauer der Non-Cylon-einnahme | Tbl. Tag | Material | Cortisol in µg in 24 h |
|---|---|---|---|---|---|
| G. H. | 23 Jahre | 2 Jahre | 13. Tag | 24 h Sammel-urin | 29,4 µg/ 24 h |
| G. G. | 21 Jahre | ½ Jahr | 15. Tag | 24 h Sammel-Urin | 35,6 µg/ 24 h |
| B. H. | 29 Jahre | 1 ¼ Jahr | 11. Tag | 24 h Sammel-urin | 50,6 µg/ 24 h |
| A. F. | 26 Jahre | 1 Jahr | 18. Tag | 24 h Sammel-urin | 68,4 µg/ 24 h |
| E. L. | 28 Jahre | 1 ½ Jahr | 15. Tag | 24 h Sammel-urin | 24,1 µg/ 24 h |
| K. L. | 22 Jahre | ¼ Jahr | 13. Tag | 24 h Sammel-urin | 27,6 µg/ 24 h |
| M. S. | 30 Jahre | 1 ½ Jahr | 10. Tag | 24 h Sammel-urin | 31,2 µg/ 24 h |
| V. H. | 28 Jahre | 1 Jahr | 14. Tag | 24 h Sammel-urin | 35,9 µg/ 24 h |
| H. H. | 26 Jahre | ½ Jahr | 19. Tag | 24 h Sammel-urin | 70,0 µg/ 24 h |
| G. S. | 19 Jahre | ¼ Jahr | 12. Tag | 24 h Sammel-urin | 13,3 µg/ 24 h |
| Mittelwert ± Standardabweichung 38,0 ± 14,3 µg/ 24 h | | | | | |

## E. Diskussion

Die in dieser Arbeit vorgelegten Befunde zeigen, daß Ovosiston eine signifikante Erniedrigung von unkonjugiertem Cortisol (II-OHCS) im Harn hervorruft. Wie die Untersuchungen mit Sequenz-Ovosiston beweisen, wird dieses hemmende Phänomen durch Chlormadinonacetat, einem 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronderivat, hervorgerufen. Unter diesem Ovulationshemmer wurde in der zweiten Phase der kombinierten Einnahme von Oestranol und Chlormadinonacetat eine signifikante Erniedrigung der II-OHCS im Urin gegenüber der ersten Phase der alleinigen Östrogentherapie gefunden. Damit wurde der Beweis erbracht, daß die im Tierversuch hemmende Nebenwirkung auf die Nebennierenrindenfunktion auch beim Menschen vorhanden ist.
Diese Befunde stehen im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren. Sie fanden unabhängig voneinander bei Untersuchungen von Nebenwirkungen der Ovulationshemmer eine signifikante Erniedrigung der 17-Ketosteroid- und 17-Hydroxycorticoidausscheidung im Urin. (52, 61, 67) Die Forscher vertreten die Ansicht, daß die verminderte Ausscheidung dieser Metabolite auf eine Einschränkung der Nebennierenrindenfunktion zurückzuführen ist. Als Ursache dafür wird eine geänderte Stoffwechsellage des Cortisols bzw. eine Hemmung des Hypophysenvorderlappens diskutiert. Zu diesen Befunden und Vorstellungen muß aber folgende Einschränkung gemacht werden: Bei der nach ZIMMERMANN (64) durchgeführten 17-Ketosteroid-Bestimmung handelt es sich um eine Gruppenbestimmung aller Steroide mit einer Ketogruppe in 17-Stellung. Die 17-Ketosteroide sind Abbauprodukte der menschlichen Keimdrüsen und der Nebennierenrindensteroide. Daher ist die Erfassung der 17-Ketosteroide kein absolutes Maß für die exakte Bestimmung der Nebennierenfunktion. Gleiche Einschränkungen gelten für die 17-Hydroxycorticoid-Bestimmung. Durch die 17-Ketosteroid- und 17-Hydroxycorticoid-Bestimmung im Urin werden fast nur die biologisch inaktiven Metabolite der eigentlichen Steroidhormone gemessen. Die Ausscheidungsrate dieser erfaßten Substanzen richtet sich aber

nicht nur nach der Sekretion der genuinen Hormone, sondern ist auch abhängig von Stoffwechselfaktoren, besonders von der Leber- und Nierenfunktion. (34, 39, 54, 64, 75)
Das Übereinstimmende dabei ist, daß alle untersuchten Kontrazeptiva als Gestagenkomponente Derivate des 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronacetats enthielten. Diese entsprechenden Abkömmlinge erzeugen, isoliert gegeben, am Tier eine hochgradige Nebennierenatrophie. (1, 2a) Wie die Ergebnisse der Untersuchung von Ovosiston und Sequenz-Ovosiston zeigen, ist dieser Einfluß auch beim Menschen vorhanden. Die stimulierende Wirkung der Östrogene reicht nicht aus, die hemmende Nebenwirkung dieser Gestagenderivate zu kompensieren.

Diese hier vorgelegten Befunde stehen im Gegensatz zu den von LINDHOLM und Mitarbeitern (40) gefundenen Ergebnissen. Sie stellten bei oralen Kontrazeptiva, die wie im Ovosiston als Gestagenkomponente ebenfalls 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronacetat enthielten, ein Ansteigen des unkonjugierten Cortisols im Harn fest. Diese Resultate sind mit den hier vorgelegten Ergebnissen jedoch nicht unmittelbar vergleichbar:

1. Die Östrogenmengen in den von LINDHOLM untersuchten Ovulationshemmern sind größer als im Ovosiston.
2. Die verabreichten Gestagenmengen sind nicht angegeben. Es muß auf Grund der allgemeinen Tendenz der Reduzierung der Gestagendosen in Ovulationshemmern (80) angenommen werden, daß sie geringer sind als im Ovosiston.
3. Es wurde nur bei 11 Frauen Cortisol bestimmt im Gegensatz zu 60 Untersuchungen dieser Arbeit.

Bei Ovulationshemmern mit geringeren Anteilen könnte es daher durch den relativ hohen Östrogenanteil zu einem Anstieg des Cortisolspiegels kommen.

Von einigen Forschern wurde ebenfalls unter dem Einfluß von Ovulationshemmern eine Erhöhung des Plasma-Cortisol-Spiegels festgestellt. (41, 48, 62) Sie fanden einen Anstieg des Cortisols im Plasma um fast das 3-fache gegenüber dem Ausgangswert von Frauen, die nicht unter Kontrazeptivaeinfluß standen. Diese Befunde stimmen nicht mit den hier zu diskutierenden Ergebnissen hinsichtlich der Größe des Plasma-Cortisol-Anstiegen überein. Die Glukokorticoidbestimmung im Plasma von 20 Frauen, die unter Ovesistoneinfluß standen, ergibt einen Mittelwert von 15,4 µg/100 ml gegenüber einem Durchschnittswert von 9,5 µg/100 ml bei unbehandelten Frauen. Unter Ovesistonbehandlung wurde ein 1,62-facher Anstieg des Normalwertes gefunden. Diese unterschiedlich starke Erhöhung scheint dadurch bedingt zu sein, daß die Autoren, die einen fast um das 3-fache angestiegenen Plasma-Cortisol-Wert fanden, bei ihren Untersuchungen Kontrazeptiva verwendeten, die als Gestagenbestandteile nur Derivate des Östrans bzw. 19 nor-Testosterons besaßen. Die Gestagene waren Norethynodrel und Norethisteronacetat. Im Tierversuch erzeugen diese Derivate keinerlei morphologische und funktionelle Veränderungen. (24, 37) Die Östrogene jedoch bewirken sowohl im Tierversuch als auch beim Menschen ein Ansteigen des gebundenen und auch des ungebundenen Cortisols. (22, 56, 67) Das hier untersuchte Kontrazeptivum Ovesiston enthält als Gestagenanteil Chlormadinonacetat, ein Derivat des 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronacetats, das im Tierversuch eine hochgradige Nebennierenatrophie hervorruft. (1, 23, 36) Wie die Befunde mit Sequenz-Ovesiston zeigen, ist dieser Einfluß auch beim Menschen vorhanden. Die von den verschiedenen Autoren gefundenen stark erhöhten Plasma-Cortisol-Werte könnten durch den Östrogeneinfluß hervorgerufen sein. Von den erwähnten Gestagenen des 19 nor-Testosterons ist bisher kein hemmender Einfluß auf die Nebenniere nachgewiesen worden, so daß die Östrogene ihre volle Wirkung entfalten können. Die von den Untersuchern gemessenen deutlich erhöhten Werte sprechen für diese Vorstellung.

Die in dieser Arbeit nicht so stark erhöht gefundenen Plasma-Cortisol-Werte sind durch folgende Tatsachen bedingt:
Aus den Cortisolwerten im Harn ergibt sich als Schlußfolgerung eine verminderte Nebennierenrindenfunktion, die wie die Ergebnisse mit Sequenz-Ovosiston zeigen, durch Chlormadinonacetat hervorgerufen wird. Die Östrogene bewirken zwar ein Ansteigen des gesamten Cortisols im Blut, können aber nicht ihre volle Wirkung auf den Glukokorticoidspiegel durch den hemmenden Einfluß der Gestagene entfalten. Dadurch finden die nicht so stark erhöhten Plasma-Cortisol-Werte in dieser Untersuchung eine Erklärung.

Unter Nohovlon, einem Ovulationshemmer, der als Gestagenanteil Norethisteronacetat einem 19 nor-Testosteronderivat enthält, wurde bei 20 Probandinnen ein Mittelwert von 37,6 µg/24 h Cumelurin gemessen. Dieses Ergebnis erweist sich bei der statistischen Mittelwertberechnung gegenüber 37,0 µg/24 h unbehandelter Frauen als nicht signifikant. Daraus kann geschlußfolgert werden, daß dieses Ovulationshemmer keinen Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion besitzen. Damit ist nachgewiesen, daß Norethisteronacetat als 19 nor-Testosteronderivat wie im Tierversuch auch beim Menschen keine hemmende Nebenwirkung hervorruft.
Aus den gefundenen Ergebnissen können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

1. Das Kontrazeptivum Ovosiston hat einen hemmenden Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion.
2. Dieses Phänomen wird, wie die Untersuchungen mit Sequenz-Ovosiston beweisen, durch Chlormadinonacetat, einem 17α-Hydroxyprogesteronabkömmling, hervorgerufen. Damit ist die im Tierversuch nachgewiesene hemmende Nebenwirkung auch beim Menschen vorhanden.

3. Dies kann als Ausdruck einer direkten oder indirekten Beeinflussung der Steroidbiosynthese in der Nebennierenrinde gedeutet werden. Für diese Vorstellungen sprechen die Befunde von GOLDZIEHER & Mitarbeiter (26), die bei einer Langzeitbehandlung mit Ovosiston an weiblichen Ratten entsprechende Veränderungen in der Steroidbiosynthese der Nebennierenrinde nachweisen konnten.

4. Die verabreichte Wirkstoffmenge in Ovosiston reicht nicht aus, um den hormonalen Einfluß der Ovarien zu kompensieren.

5. Der Ovulationshemmer Ovosiston hat keinen nennenden Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion. Damit ist bewiesen, daß 19 nor-Testosteronderivate wie beim Tier auch beim Menschen keine Nebenwirkung zeigen.

Durch diese Befunde wird es notwendig, die bisherige Zusammensetzung von Ovulationshemmern so zu verändern, daß entweder 19 nor-Testosteronderivate als Gestagenanteile verwendet oder 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronderivate wesentlich niedriger dosiert werden.

Zusammenfassung

Es wird ein kurzer Überblick über die Entwicklung der Ovulationshemmer von den Anfängen bis zur Gegenwart gegeben. Dabei wird auf die Nebenwirkungen der Östrogene und Gestagene, besonders auf die Nebennierenrindenfunktion, eingegangen. Bei den Östrogenen ist eine Stimulierung der NNR nachgewiesen, die sich durch einen Anstieg sowohl auf die gebundenen als auch auf die ungebundenen Glukokortikoide im Plasma auswirkt. Von den zwei verwendeten Stoffklassen der Gestagene sind folgende Nebenwirkungen bekannt:

1. Bei den 17$\alpha$-Hydroxyprogesteronacetatderivaten wurde im Tierversuch an der Ratte und der Maus ein besonder Einfluß nachgewiesen.
2. 19-Nor-Testosteronabkömmlinge zeigen im Tierversuch keinen Einfluß auf die Nebenniere.

Auf Grund der vielseitigen Anwendung der Ovulationshemmer als Kombination von Östrogenen und Gestagenen wurde untersucht, ob diese Präparate eine Nebenwirkung auf die menschliche Nebenniere besitzen. Die Einschätzung der menschlichen Nebennierenrindenfunktion erfolgte durch die Bestimmung von Cortisol in Plasma und Harn. Als Methode dazu wurde ein im Institut entwickeltes Verfahren der fluorometrischen Bestimmung von Cortisol verwendet. Diese Methode wurde bis zur technischen Beherrschung eingeübt und folgende Ergebnisse erzielt:

1. Ohne Kontrazeptivaeinfluß wurde bei 30 Frauen ein Mittelwert von 37,0 $\pm$ 5,9 $\mu$g/24 Stunden-Cortisolurie gefunden. Im Plasma von 30 Probandinnen ohne Ovulationshemmereinfluß ergab die Glukokortikoidbestimmung einen Mittelwert von 9,5 $\pm$ 2,6 $\mu$g/100 ml. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Autoren überein.

II. Unter Ovulationseinfluß ergab die Bestimmung der 11-OHCS im Urin bei 30 Frauen einen Mittelwert von 25,4 ± 3,2 µg/24 h, der signifikant verschieden ist gegenüber 37,0 ± 3,7 µg/24 h bei unbehandelten Probanden ($p < 0,01$)

III. Unter Sequenz-Ovulation wurde in der ersten Phase der östrogenbehandlung ein Mittelwert der 11-OHCS im Urin von 37,0 ± 3,1 µg/24 h gefunden. In der zweiten Phase unter der Kombination von Östrogenen (Mestranol) und Gestagenen (Chlormadinonacetat) ergab sich ein Mittelwert von 24,8 ± 3,3 µg/24 h Urin, der sich signifikant gegenüber 37,0 ± 3,1 µg/24 h während der ersten Phase ($p < 0,01$) unterscheidet.

IV. Bei Frauen, die unter Non-Ovulationstest standen, ergab die Bestimmung der 11-OHCS im Urin einen Mittelwert von 30,0 ± 14,4 µg/24 h. Es wurde wie im Tierversuch durch Gestagenisierung, ein 19-Nor-Testosteronderivat, kein hemmender Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion nachgewiesen.

Diese Ergebnisse zeigen:

1. Daß Ovulation und Sequenzovulation einen hemmenden Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion ausüben.

2. Daß dieses Phänomen wie im Tierversuch durch Chlormadinonacetat, ein 17 α -Hydroxyprogesteronderivat, hervorgerufen wird.

3. Daß Gestagene, die sich von 19 Nor-Testosteron ableiten lassen, keinen hemmenden Einfluß auf die Nebennierenrindenfunktion ausüben.

Aus diesen Befunden ergeben sich daher folgende Schlußfolgerungen:

1. Gestagene, die sich vom 17 α -Hydroxyprogesteronacetat ableiten lassen, in Ovulationshemmern niedriger zu dosieren oder

2. statt dieser Gestagenderivate 19 nor-Testosteron-abkömmlinge in den Kontrazeptiva zu verwenden.

THESEN

1. Es ist bekannt, daß bestimmte Gestagene im Tierversuch einen hemmenden Einfluß auf die Nebennieren ausüben. Das sind vor allem die Derivate des 17α-Hydroxyprogesteronacetates.

2. Bei ihrer Verabreichung kommt es bei der Ratte und der Maus zu einer Nebennierenatrophie, während von 19 nor-Testosteronderivaten kein hemmender Einfluß auf die Nebenniere nachgewiesen worden ist.

3. Östrogene rufen im Tierversuch und ebenso bei ihrer Anwendung an Menschen einen Anstieg sowohl des gebundenen, also biologisch inaktiven, als auch des ungebundenen biologisch aktiven Cortisols hervor.

4. Da in Ovulationshemmern relativ hohe Dosen an Progesteronderivaten enthalten sind, wurde ihr möglicher Einfluß auf die menschliche Nebennierenrindenfunktion untersucht. Dabei ist zu beachten, daß Kontrazeptiva aus einer Kombination von Gestagenen und Östrogenen bestehen und sich daher drei mögliche Nebenwirkungen ergeben könnten:

   a) Eine Stimulierung der Nebennierenrindenfunktion durch den Einfluß der Östrogene.

   b) Eine Hemmung durch Überwiegen des Gestageneinflusses.

   c) Keine meßbaren Veränderungen durch Kompensation der entgegengesetzten Wirkungen von Progestagenen und Östrogenen.

5. Die menschliche Nebennierenrindenfunktion wurde durch die Bestimmung der 11-OHCS nach der von STAHL & BÖHLER entwickelten Methode beurteilt. Das Prinzip dieser Bestimmung ist die empfindliche Fluoreszenzreaktion von Cortisol, die durch hoch konzentrierte Schwefelsäure angeregt wird.

Der Vorteil dieser Art der Bestimmung ist der, daß die im Harn erfaßten unkonjugierten Corticoide ein Maß für die ungebundenen biologisch aktiven Plasmaglukokorticoide darstellen, da über die Nieren nur die nichteiweißgebundenen Corticoide ausgeschieden werden können.

6. Als erstes wurde Ovosiston untersucht. Dieser Einphasenovulationshemmer enthält als Gestagenanteil 2 mg 6-Chlor 17 $\alpha$-hydroxy-4,6-pregnadien-3,20-dionacetat (Chlormadinonacetat) und 0,08 mg 3-Methoxy-17 $\alpha$-äthynyl-1,3,5 (10)-östratrien-17 $\beta$-ol (Mestranol). Dieses Kontrazeptivum wird während des Zyklus 21 Tage regelmäßig eingenommen. Anschließend erfolgt eine siebentägige Tablettenpause. Die fluorometrische Bestimmung der 11-OHCS im Urin von 60 Frauen unter Ovosiston ergibt einen Mittelwert von 29,4 µg/24 h. Die durchgeführte statistische Mittelwertberechnung erweist sich gegenüber einem Durchschnittswert von 37,0 µg/24 h von 30 unbehandelten Probandinnen als signifikant ($p < 0,001$) unterschiedlich.

7. Als zweites Kontrazeptivum wurde Sequens-Ovosiston untersucht. Bei diesem Zweiphasenhemmer wird vom ersten bis vierzehnten Tag eine alleinige Dosis von 0,10 mg Östranol pro die gegeben. Vom 15. bis 21. Tag eine Kombination von 2 mg Chlormadinonacetat und 0,08 mg Östranol. Bei der Sequential-Therapie wird ebenfalls eine siebentägige Tablettenpause eingehalten.

In der ersten Phase der alleinigen Östranolbehandlung wurde bei 10 Frauen ein Mittelwert der 11-OHCS von 37,8 µg/24 h gemessen, der sich als nicht signifikant gegenüber dem Durchschnittswert unbehandelter Probandinnen erweist.

In der zweiten Phase der kombinierten Therapie mit Gestagenen und Östrogenen ergibt die 11-OHCS-Bestimmung einen Mittelwert von 24,0 µg/24 h. Dieses Ergebnis ist

signifikant ($p < 0{,}001$) unterschiedlich gegenüber dem Durchschnittswert unter der alleinigen Östrogenbehandlung in der ersten Phase.

8. Als dritter Ovulationshemmer wurde Non-Ovlon untersucht. Dieser Mehrphasenovulationshemmer besteht aus einer Kombination von 1 mg Norathisteronacetat, einem 19-Nor-Testosteronderivat und 0,05 mg Äthinylestradiol als Östrogenbestandteil. Dieses Kombinationspräparat wird ebenfalls über den gesamten Zyklus von 21 Tagen, unter einer siebentägigen Tablettenpause, eingenommen.
Die Bestimmung der 17-KHS im Harn von 20 Probandinnen unter Non-Ovlon-Einfluß ergibt einen Mittelwert von 37,0 µg/24 h. Dieses Ergebnis unterscheidet sich nicht signifikant gegenüber einem Durchschnittswert von 37,0 µg/24 h unbehandelter Frauen.

9. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die untersuchten Ovulationshemmer mit Gestagenbestandteilen, die sich von 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronacetat ableiten lassen, beim Menschen eine Erniedrigung von unkonjugiertem Cortisol im Harn hervorrufen. Damit wurde die beim Tier hemmende Chlormadinonacetatwirkung auch beim Menschen nachgewiesen, während Gestagene, die sich von 19-Nor-Testosteron ableiten lassen, auch beim Menschen keinen hemmenden Einfluß auf die Nebennierenrindenfunktion besitzen.

10. Im Ovulationszyklus reicht die vorhandene Östrogenmenge nicht aus, um den hemmenden Einfluß des Gestagens zu kompensieren.

11. Diese Ergebnisse lassen die Schlußfolgerung zu, die bisherige Zusammensetzung von Ovulationshemmern so zu verändern, daß 17 $\alpha$-Hydroxyprogesteronderivate niedriger dosiert werden, oder statt dieser Gestagenderivate 19-Nor-Testosteronabkömmlinge zu verwenden.

Für die Überlassung des Themas und die verständnisvolle Unterstützung meiner Arbeit bin ich Herrn Prof. Dr. sc. med. U. Dörner zu großem Dank verpflichtet.

Ich bin Herrn Dr. rer. nat. Inhil. Stahl für seine ständige Hilfe bei meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis


1. Arends, J.:
Arch. Pharm Chemie 70 (1963) 907
2. Assali, N. S., J. B. Garst, J. Voskian:
J.lab. clin. Med. 46 (1955) 385
3. Bayliss, R. J. S., J. C. M. Browne, B. P. Round, A. W. Steinbeck:
Lancet I (1955) 62
4. Beisel, W. R., J. J. Cos, R. Horton, P. Y. Chao, P. H. Forsham:
J. clin. Endocr. 23 (1961) 25
5. Bickenbach, W., E. Paulikowicz:
Zbl. Gynäk. 68 (1944) 153
6. Booth, M., P. F. Dixon, C. H. Gray, J. M. Greeway, A. Holmes:
J. clin. Endocr. 25 (1961) 25
7. Braunsberg, H., V. H. T. James:
J. clin. Endocr. 21 (1960) 452
8. Braunsberg, H., V. H. T. James:
Analyt. Bioch. I (1960) 452
9. Buchholz, R., L. Noke, W. Noke:
Gburtsh. und Frauenheilk. 22 (1962) 923
10. Burke, C. W.:
Brit. med. J. I (1970) 657
11. Burke, C. W., F. Roulet:
Brit. med. J. I (1970) 657
12. Cammani, F., F. Masara, G. M. Molinati:
Acta endocr. 43 (1963) 477
13. Cohen, M. M., H. Rankin:
Fertil. and Stril. II (1960) 497
14. Cope, C. L., E. G. Black:
Obstet. Gynec. Brit. Empire 66 (1959) 404
15. Cope, C. L.:
Adrenal Steroids u. Disease, Kap. 33
Philadelphia (USA)

16. Daughady, W. H., R. E. Adler, J. K. Mariz, L. C. Rasmiński:
J. clin. Endocr. 27 (1962) 704
17. Dawling, J. T., D. L. Hindle, W. R. Hutchinson,
Ch. R. Kleemann:
J. clin. Endocr. 21 (1961) 779
18. Dickey, R. P. u. C. H. Dorr:
Obstet. and Gynec. 33 (1969) 273
19. Diczfalusy, E., E. Johannisson, K. G. Tillinger:
J. Int. Fed. Gynaec. Obstet. I (1963) 145
Djurisic, S.:
Obstet. Gynec. 59 (1960) 494
20. Doe, R. B., Zinnemann, H. H., E. B. Flink,
H. A. Ulstrom:
J. clin. Endocr. 20 (1960) 1484
21. Doe, R. P., R. Fernandez, U. S. Seal:
J. clin. Endocr. 24 (1966) 1029
22. Doe, R. P., P. Dickinson, H. H. Zinnemann, U. S. Seal:
J. clin. Endocr. 29 (1969) 757
23. Dörner, G., H. T. Pyong, G. Hinz:
Acta biol. med. germanica Band 26 (1971) 105
24. Edgren, R. A., W. E. Hambourger, D. W.
Endocrindoy 65
25. Gemzell, C. A.:
J. clin. Endocr. 13 (1953) 898
Garcia, C. R., J. Rock, G. Pincus:
Amer. J. Obstet. Gynec. 75 (1958) 643
Gitsch, E.
26. Glenn, E. M., S. L. Richardson, B. J. Bowman:
Metabolism 81 (1959) 265
Goldzieher, J. W., E. Rice-Wray, M. Schulz-Contreras,
A. Aranda-Rosell:
Amer. J. Obstet. Gynec. 84 (1962) 1474
27. Goldzieher, J. W., L. E. Moses, U. L. T. Ellis:
J. Amer. med. Ass. 180 (1962) 359
Goldzieher, J. W., C. Becarra, C. Gual,
N. B. Livingston jr., M. Maqueo, L. E. Moses, C. Tietze:
Amer. J. Obstet. Gynec. 90 (1964) 404

28. Gontscharow, N. P.:
Endokrinologie 60 (1972) 380
29. Haberland, L.:
Münch. med. Wschr. 68 (1921) 1577
30. Haller, J.:
Ovulationshemmung durch Hormone S. 42
Georg-Thieme-Verlag-Stuttgart 1968
31. Haller, J., H. Kirchoff:
Internist 5 (1964) 153
Haller, J.:
III. Weltkongreß für Gynäkologie und Geburtshilfe, Wien, Sept. 1961 Bd. I. S. 75
32. Hecht-Lucari, G.:
Int. J. Fertil. 9 (1964) 205
33. Hedner, P.:
Acta pharmac. et tox. 18 (1961) 65
34. Hellman, L., H. L. Bradloff, B. Zumoft, T. F. Gallagher:
J. clin. Endocr. 21 (1961) 1231
35. Hertz, R., W. Tullner, E. Raffelt:
Endocrinology 54 (1954) 228
36. Holub, D. A., F. H. Kratz, J. W. Jailer:
Endocrinolgy 68 (1961) 174
37. Junkmann, K.:
Der Internist 5 (1964) 239
Kaiser, R.:
Dtsch. Med. Wschr. 88 (1963) 2325
Karl, H. J.:
Klin. Wschr. 38 (1960) 110
Karl, H. J., W. Decker:
X Symp. dtsch. Ges. Endokinol. in Wien vom 7. - 11. März 1963, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1964, S. 198
38. Krause, J. u. H. Stamm:
Fortschr. Geburtsh. u. Gynäk. Vol. 42 (1970) 57
Lorraine, J. A.:
III. Weltkongreß für Gynäkologie und Geburtshilfe, Wien, Sept. 1961, Bd. I. S. 75

39. Lanartu, J.:
Int. J. Fert. 9 (1964) 225
40. Lindholm, J. u. N. Schultz-Müller:
Scandinavian Journal of. Clinical + Koboratory Investisation
41. Layne, D. S., C. J. Meyer, P. S. Vaishwanar, G. Pincus:
J. clin. Endocr. 22 (1962) 107
Loraine, J. A.:
III. Weltkongreß für Gynäkologie und Geburtshilfe, Wien, Sept. 1961, Bd. I, S. 75
Loraine, J. A.:
Lancet 7314 902 (1963) 7314
42. Lunenfeld, B.:
Int. J. Fertil. 9 (1964) 167
43. Marks, L. J., G. Bejamin, F. J. Duncon, J. V. J. O. Sulwain:
J. clin. Endocr. 21 (1961) 826
44. Martin, J. D., I. H. Mills:
Clin. Sci. 17 (1958) 137
45. Maqueo, M., E. Perez-Vega, J. W. Goldzieher, J. Martinez-Manarton, H. Rudel:
J. Obstet. Gynec. 85 (1963) 427
Maqueo, M., J. Ch. Azuela, J. J. Calderon, J. W. Goldzieher:
Amer. J. Obstet. Gynec. 96 (1966) 994
46. Massenbach, W. V.:
Dtsch. med. Wschr. 67 (1941) 513
47. Mears, E., E. C. G. Grant:
Brit. med. J. 1962/II S. 75
48. Metcalf, M. G., D. W. Beaven:
Lancet 1963/II S. 1059
49. Millis, J. H., H. P. Chenjr, A. S. Schedl, F. C. Bartter:
J. clin. Endocr. 20 (1960) 513
50. Millis, J.:
in: discussion of Peterson, R. E.
Recart Progr. Hormone Res. 15 (1959) 231

51. Neher, R.:
in: Sobotka, H., C. P. Stewart
Advances clin. Chem. S. 127
New-York, London 1958
Norymberski, J. K., R. D. Stubbs:
Biochem. J. 64 (1956) 168
52. Ostergard, E., J. Arends, Chr. Hambourger, S. G. Johanson:
Acta endocr. 53 (1966) 13
53. Peeters, M., R. van Roy, R. Oeyen, R. Snauwaert, A. van Tilborg:
Internist (Berl.) 5 (1964) 246
54. Petterson, R. E., A. Karrer, S. L. Guerra, A. E. Brodie, J. J. Bum:
J. clin. Endocr. 17 (1957) I
Petterson, R. E., G. Nokes, P. S. Chenard, R. L. Black:
J. clin. Endocr. 20 (1960)
Pincus, G., J. Rock, C. R. Garcia, E. Rice-Wray, J. Rodrigues:
Amer. J. Obstet. Gynec. 75 (1958) 1474
55. Pincus, G.:
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 28 (1956) 18
Pincus, G., M. C. Chang, E. S. E. Hafez, M. X. Zarow:
Science 124 (1956) 890
56. Plager, J. E., N. Matsui:
Proc. sec. intern. Congr. Horm. Steroids
Milan 1966 Exerpta Med. Found. Amsterdam 1967,
S. 447
57. Plager, J. E., K. G. Semidt, W. J. Staubitz:
J. clin. Invest. 43 (1964) 1066
58. Psrechembel, W.:
Praktische Gynäkologie, 4. Auflage
Walter de Gryter & Co., Berlin 1968, S. 236
59. Onken, D.:
Steroide Zur Chemie und Anwendung
WTB Chemie 1971 Bd. 92. S. 103

Rauscher, H.:
Vortrag Round-Table-Konferenz, III. Weltkongr. für Gynäkologie und Geburtshilfe, Wien, Sept. 1961, Bd. I, S. 156

60. Rice-Wray, Q. E., A. Aranda-Rosell, M. Maqueo, J. W. Goldzieher:
Amer. J. Obstet. Gynec. 90 (1964) 395

61. Richter, R. H. H., M. Arnold, R. F. Roth:
Acta. endocr. Suppl. 100 (1965) 100

Robinson, H. J., W. G. Bernhard, H. Grubin, H. Warner, G. W. Sewekow, R. H. Silber:
J. clin. Endocr. 15 (1955) 317

62. Rock, J., C. R. Garcia, G. Pincus:
Science 124 (1957) 3227

63. Roland, M.:
Amer. J. Obstet. Gynec. 63 (1962) 81

64. Rosner, J. M., J. J. Coss, E. G. Bighiri, S. Mane, P. M. Forsheim:
J. clin. Endocr. 23 (1963) 820

65. Sadiglia-Negad, A. S. L. Kaplan, M. M. Grumbach:
J. Pediat. (St. Louis) 78 (1971) 616

66. Sandberg, A. A., Slaunwhite, W. R., Carter, A. C.:
J. clin. Invest. 39 (1960) 1974

67. Sandberg, A.A., H. Rosenthal, W. R. Slaunwhite:
Prec. soc. intern. Congr. Horm. Steroids Milan 1966, Exerpta Med. Found. S. 697
Amsterdam 1967

68. Schedl, H. P., P. S. Chen, G. Greene, D. Reded:
Recert. Progr. Hormon Res. 15 (1959) 231

69. Schuller, E.:
Acta endocr. (Kbh.) 25 (1957) 345

Schwarz, K., Kopatz, K.:
Klin. Wschr. 38 (1960) 335

70. Schwarz, K., H. Schmidt-Elmendorf:
Klin. Wschr. 38 (1960) 139

Seal, U. S., R. P. Doe:
Proc. sec. intern. Congr. Horm. Steroids
Milan 1966
Excerpta Med. Found., S. 697, Amsterdam 1967
71. Slaunwhite, W. R., G. N. Lockie, N. Black, A. A. Sandberg:
Science 135 (1962) 1062
72. Silber, R. H., C. C. Porter:
J. Biol. Chem. 210 (1954)
Silberg, R. H., C. C. Porter:
in: Methods of Biochemical Analysis Vol. 4
London, New-York 1957
73. Starup, J., V. Sele, O. Buus:
Acta endocr. 53 (1966) I
Staemler, H.-J.:
Geburth. u. Frauenheilk. 20 (1960) 758
74. Staemler, H.-J.:
III. Weltkongr. für Gynäkologie u. Geburtsh.
Wien, Sept. 1961, Bd. I. S. 75
75. Stanekova, A.:
Endokrinologie 44 (1963) 49
76. Stahl, F., K. Hagen, G. Dörner:
Zbl. Gynäk. 91 (1969) 21
77. Stahl, F., G. Dörner:
Zeitschr. f. Gesamte Innere Med. u. Grenzgebiete
6 (1968) 23
78. Suchowsky, G. K., G. Baldratti:
Beitr. zur Fertil. u. Steril.,
Enke Stuttgart 1964 (92)
79. Thiery, M.:
IffF Med. Bull. 3/5 (1969) 3
80. Toth, F., R. Gimes, B. Horn, T. Kerenyi:
Zeitschr. für Ärztl. Fortbild.
66. Jahrg. Heft 20 (1972) 1021

81. Ufer, J.:
Hormontherapie in der Frauenheilkunde
3. Auflage, Walter de Gruyter & Co. (Berl.) 1966
S. 112
82. Wallach, R. P., C.-H. Garcia, R. W. Kistner, G. Pincus:
J. Obstet. Gynec. 87 (1963) 991
Whitelaw, M. J.:
III. Weltkongreß für Gynäkologie u. Geburtsh.
Wien, Sept. 1961, Bd. I, S. 170
83. Yates, F. E., J. Urquhart:
Physiol. Rev. 42 (1962) 359
84. Zimmermann, W.:
Hoppe-Seylers z. physiol. Chemie 233 (1935)
S. 257
Zondek, B.:
Fertil. and Steril. 6 (1955) 523